МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ЕКОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра іхтіології та зоології

ІХТІОПАТОЛОГІЯ

Методичні вказівки
до виконання практичних робіт для студентів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 207 “Водні біоресурси та аквакультура”

Біла Церква
2021

УДК: 619:639.3.09.(076)

Рекомендовано до друку
методичною комісією
університету
(Протокол № 2 від 19.10.2021 р.)

Укладачі: Гриневич Н.Є., доктор. вет. наук, професор;
Слюсаренко А.О., канд. вет. наук, доцент;
Хом'як О.А., канд. с.-г. наук, доцент;
Присяжнюк Н.М., канд. вет. наук, доцент;
Михальський О.Р. ст. викладач;
Трофимчук А.М., канд. с.-г. наук, доцент;
Жарчинська В.С., асистент;
Павуско З.А., викладач-методист.

Іхтіопатологія: методичні вказівки до виконання практичних робіт для студентів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 207 "Водні біоресурси та аквакультура" / Н.Є. Гриневич, А.О. Слюсаренко, О.А. Хом'як, Н.М. Присяжнюк, О.Р. Михальський, А.М. Трофимчук, В.С. Жарчинська, З.А. Павуско – Біла Церква, 2021. – 145 с.

Рецензент:
Слюсаренко С.В. канд. вет. наук, доцент кафедри безпечності та якості харчових продуктів, сировини і технологічних процесів Білоцерківського НАУ

© БНАУ, 2021

ВСТУП

Іхтіопатологія вивчає хвороби риб різної природи, їх етіологію, чинники, що сприяють їх спалаху, клінічні ознаки та перебіг, патологоанатомічні зміни, методи діагностики, заходи з профілактики і лікування, а також загальні рибоводно-меліоративні і ветеринарно-санітарні вимоги до вирощування риби, спрямовані на профілактику хвороб та токсикозів.

Іхтіопатологія є самостійною наукою, яка виникла на стику ветеринарії, іхтіології та рибництва.

Хвороби риб наносять значні економічні збитки аквакультурі. Вивчення закономірностей їх виникнення та поширення, розробка заходів запобігання є важливою проблемою сучасного рибництва, оскільки від її вирішення залежить ефективність відтворення та вирощування об'єктів аквакультури, збереження рибної продукції.

Ефективність оздоровчих та лікувальних заходів залежить від знань загальної біології та патології риб, закономірностей виникнення, перебігу і прояву різних захворювань, своєчасної діагностики, а також специфіки рибного господарства чи водойми.

Метою вивчення дисципліни «Іхтіопатологія» є формування теоретичної та практичної бази, необхідної для успішного освоєння процесів вирощування риби та отримання якісної рибної продукції, ознайомлення з основами загальної патології, паразитології та механізмами захисту організму, основними хворобами риб, їх природою, рибоводно-меліоративними, ветеринарно-санітарними та лікувально-профілактичними заходами.

Завданням «Іхтіопатології» є вивчення: загальних понять, класифікації хвороб риб; типових патологічних процесів та компенсаторно-пристосовних реакцій у риб; інфекційних, інвазійних та незаразних хвороб риб, їх етіології, поширення і методи діагностики; основних складових комплексу профілактичних і ветеринарно-санітарних заходів, їх організацію і проведення під час вирощування риби; основних дезінфекційних, антибактеріальних, проти паразитарних та інших препаратів, що застосовуються для лікувально-профілактичної обробки риби в аквакультурі; основ ведення іхтіопатологічної документації.

Інформаційними джерелами є наведений перелік рекомендованої літератури.

ОЧІКУВАНІ КОМПЕТЕНТНОСТІ ВІДПОВІДНО ДО СТАНДАРТУ ВИЩОЇ ОСВІТИ

Компетентність за спеціальністю «Водні біоресурси та аквакультура» відповідно до освітньо-професійної програми
Інтегральна компетентність
Здатність розв'язувати задачі та практичні проблеми у галузі водних біоресурсів та аквакультури, щодо профілактичних і ветеринарно-санітарних заходів, їх організацію і проведення під час вирощування риби та питань іхтіопатології.
Загальні компетентності
К02. Здатність зберігати та примножувати наукові досягнення у напрямку збереження іхтіофауни, типових патологічних процесів та компенсаторно-пристосовних реакцій у риб.
К07. Здатність до пошуку, оброблення та аналізу інформації про стан проведення робіт із застосування основних дезінфекційних, антибактеріальних, проти паразитарних та інших препаратів, що використовуються для лікувально-профілактичної обробки риби в аквакультурі.
Спеціальні компетентності
К09. Здатність сприймати нові знання в галузі іхтіопатології та інтегрувати їх з наявними.
К13. Здатність аналізувати господарську діяльність, щодо використання методів діагностики патологічних процесів.

ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ НАВЧАННЯ

Символ результатів навчання за спеціальністю «Водні біоресурси та аквакультура» відповідно до освітньо-професійної програми	Результати навчання з дисципліни
РН-5	Знати та розуміти основи рибництва: в гідробіології, гідрохімії, біофізиці, іхтіології, біохімії та фізіології гідробіонтів, генетиці, розведенні та селекції риб, рибальстві, гідротехніці, іхтіопатології, аквакультурі природних та штучних водойм на відповідному рівні для основних видів професійної діяльності.
РН-13	Знати та розуміти елементи рибництва (гідроекології, гідротехніки з основами проектування рибницьких підприємств, генетики, розведення та селекції, годівлі риб, іхтіопатології, економіки рибницьких підприємств).
РН-18	Аналізувати результати досліджень гідрологічних, гідрохімічних і гідробіологічних та іхтіологічних показників водойм, фізіолого-біохімічний, іхтіопатологічний стан гідробіонтів, оцінювати значимість показників.

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1

ОСНОВИ ЗАГАЛЬНОЇ ІХТІОПАТОЛОГІЇ

Практичне заняття № 1

Тема: Устаткування лабораторії іхтіопатологічних досліджень

Мета заняття: ознайомитися із основними складовими лабораторії іхтіопатологічних досліджень

Матеріали та обладнання: положення, інструкція з охорони праці при роботі в лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень

Завдання:

1. Ознайомитися із основними складовими приміщень лабораторії іхтіопатологічних досліджень;
2. Вивчити загальні правила роботи в лабораторному приміщенні.

Значення іхтіопатологічних досліджень все більше зростає у зв'язку із розширенням спектру об'єктів вирощуванняи в умовах аквакультури.

Іхтіопатологічні дослідження проводять у польових та лабораторних (для конкретизації під час постановки діагнозу) умовах.

У лабораторії для досліджень інфекційних хвороб риб має бути: підсобне приміщення; препараторська для посуду, виготовлення живильних середовищ, стерилізації; акваріальне приміщення; приміщення для роботи з культурами; приміщення для мікроскопічного дослідження препаратів.

Підсобне приміщення – призначене для зберігання лабораторних матеріалів і корму для піддослідних риб (гідробіонтів). Поруч приміщення для підготовки до експерименту і для патологічних розтинів.

Акваріальне приміщення – при обладнанні акваріумів враховують проточність, аерацію, температуру, штучне освітлення і годівлю. Вміст O_2 визначають портативним оксиметром (або титруванням за Вінклером).

При виникненні сапролегніозу застосовують розчин метиленового синього (1 : 50000 або 1 : 100000).

Препараторське приміщення – раковина, сушильна шафа на 200-250°С, автоклав (або інші технічні засоби деконтамінації), центрифуга на 5-6 тис. обертів, дистилятор, вакуумний електро- або водоструменевий насос, фільтри, витяжна шафа.

Приміщення для бактеріологічних і вірусологічних досліджень: обладнують вентиляцією, підлогу покривають лінолеумом або кафелем, монтують бокси з передбоксом для виділення чистих бактеріальних культур.

<u>Загальні правила роботи в лабораторному приміщенні</u>

1. Керівник лабораторії повинен розробити і встановити правила; процедури та протоколи для всіх операцій і допуску до лабораторії;

2. Під час роботи необхідно дотримуватися належної техніки мікробіологічних досліджень;

3. У всіх відділах та інших підрозділах лабораторії, де проводяться роботи з культурами патогенних мікроорганізмів або зараженими лабораторними тваринами чи матеріалом, вживають необхідних заходів, що виключають зараження працівників і поширення збудників інфекції за межі підрозділів (приміщень);

4. Необхідно передбачити механічну вентиляцію, що забезпечує надходження повітря в усі кімнати. Система повинна бути сконструйована таким чином, щоб виключити можливість випадкового зворотного потоку повітря і створення надлишкового тиску в будь-якій зоні лабораторії;

5. Опалення, вентиляція і освітлення повинні відповідати встановленим вимогам;

6. Проектом необхідно передбачити ефективну очистку і прибирання приміщень;

7. Необхідно передбачити пристрої для миття рук. При вході і перед виходом у приміщення, в якому утримуються гідробіонти, персонал повинен вимити руки;

8. Вибір і погодження умов відведення й очищення стічних вод повинні виконуватися відповідно до вимог Водного Кодексу України (213/95-ВР) та інших чинних нормативних актів;

9. У акваріальному приміщенні повинні перебувати лише риби, які використовуються для експерименту;

10. У приміщеннях де утримуються гідробіонти, персоналу забороняється вживати їжу, напої, палити, наносити косметику;

11. У кімнатах, де проводиться робота з інфікованим матеріалом, та в боксах заборонено проводити інші види робіт;

12. Після використання робочі поверхні необхідно провести деконтамінацію ефективними дезінфікуючими засобами;

13. Вакцинні штами необхідно зберігати окремо від патогенних у спеціальних шафах, термостатах, холодильниках. Не допускається сумісне зберігання в одному холодильнику живих культур патогенних мікроорганізмів та діагностичних препаратів;

14. Препарати для проведення лікувальних, профілактичних, діагностичних заходів повинні відповідати технічним умовам на їх виготовлення та відповідним стандартам і використовуватися лише в строки, зазначені на упаковці;

15. Для всього персоналу необхідно встановити відповідну програму спостереження, а також розробити і прийняти практичне керівництво з експлуатації та техніки безпеки;

16. Матеріали для обробки в автоклавах або утилізації повинні транспортуватися в закритих контейнерах з дотриманням техніки безпеки;

17. Автоклав повинен бути розташований в зручному місці. Перед транспортування контамінованих відходів в інші зони лабораторії їх необхідно обробити в автоклаві;

18. Електроприводи, обладнання та електричні прилади повинні і відповідати вимогам Правил улаштування електроустановок (ПУЕ), Правил

технічної експлуатації електроустановок споживачів (ПТЕ) і ДНАОП 0.00-1.21-98;

19. На робочих місцях для кожного виду обладнання, що використовується у лабораторіях, повинна бути інструкція заводу-виробника з експлуатації цього обладнання;

20. Перед пуском центрифуги потрібно перевірити пробірки на відсутність тріщин або сколотих країв та стан гумових прокладок. Під час роботи з центрифугою не можна допускати: перевищення кількості обертів; різкого (раптового) гальмування; нерівномірного завантаження; відкривання кришки до повної зупинки центрифуги.

Запитання для самоконтролю:

1. Значення іхтіопатологічних досліджень.
2. Загальні правила роботи в лабораторному приміщенні.
3. Обов'язки керівника лабораторії іхтіопатологічних досліджень.
4. У чому заключається специфіка лабораторного приміщення для бактеріологічних і вірусологічних досліджень?
5. Обладнання для мікроскопічного дослідження препаратів.

Практичне заняття № 2

Тема: Відбір та доставка патологічного матеріалу для лабораторного дослідження

Мета заняття: ознайомитися із особливостями відбору та доставки патологічного матеріалу для лабораторного дослідження

Матеріали та обладнання: жива риба, набір інструментів для патолого-анатомічного розтину, фіксуючі розчини, водонепроникна тара.

Завдання:

1. Відібрати зразки для бактеріальних і вірусологічних досліджень;
2. Відібрати кров на посіви;
3. Вивчити етапи проведення мікробіологічних досліджень.

Зразки патологічного матеріалу для бактеріологічних досліджень відбирають із дотриманням правил асептики в стерильний посуд чи поживні середовища. Для дослідження беруть лише живу рибу, оскільки у снулої проникність стінок шлунково-кишкового тракту та кровоносних судин збільшується і сапрофітна мікрофлора швидко контамінує всі органи і тканини, ускладнюючи виділення збудника захворювання.

Відібраний патологічний матеріал описують, етикетують, упаковують у водонепроникну тару, опечатують і доставляють за місцем призначення (у лабораторію). У супровідному листі необхідно вказати дані обстеження водойми, дату, попередній діагноз та лабораторні дослідження, які необхідно провести.

Шматочки органів для бактеріологічних і вірусологічних досліджень відібрані стерильно, можна консервувати стерильним 4-5% розчином

гліцерину у фізіологічному розчині чи воді. Відібрані для досліджень зразки із супровідним документом доставляють у лабораторію щонайшвидше (влітку не пізніше ніж через 2 години після відбору). Якщо доставка вимагає більш тривалого часу, їх транспортують у термосі з льодом. За потреби посіви патологічного матеріалу на тверді поживні середовища МПА, TSA (м'ясо-пептонний агар, триптозо-соєвий агар) для бактеріологічних досліджень здійснюють безпосередньо у господарстві.

Результати бактеріологічних та вірусологічних досліджень залежать від правильного відбору патологічного матеріалу та своєчасної його доставки в лабораторію. Часто захворювання вірусної етіології супроводжується наявністю бактеріальної інфекції, що ускладнює їх діагностику.

Бактеріологічні посіви проводять, у першу чергу, з уражених ділянок шкіри, м'язів (виразки, абсцеси), зябрової тканини, крові та асцитної рідини, а після ростину порожнини – з внутрішніх органів. Патологічний матеріал з паренхіматозних органів відбирають стерильно пастерівськими піпетками або бактеріологічною петлею. Посіви з кишкового тракту роблять в останню чергу.

Виразки перед відбором патологічного матеріалу промивають стерильним фізіологічним розчином; вміст абсцесів, фурункулів, асцитної рідини набирають пастерівською піпеткою після асептичної обробки поверхневих тканин.

Кров на посіви беруть із серця або з хвостової артерії. Для посіву потрібно 2-3 краплини крові, при цьому першу краплину, зазвичай, вилучають.

Для асептичного розтину рибу знерухомлюють. Тулуб з лівого боку звільняють від слизу, вилучають грудний і черевний плавці, дезінфікують спиртом або фламбують спиртовим тампоном. Стінку черевця відсікають стерильними ножицями півмісяцевим розрізом від ануса до зяберної кришки.

Первинні бактеріологічні посіви здійснюють на тверді поживні середовища – м'ясо-пептонний агар (МПА), триптозо-соєвий агар (TSA), інколи на м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), а за потреби – на елективні та диференціально-діагностичні середовища (Гісса, Ендо, Левіна та ін.). Одночасно або після закінчення посівів готують мазки крові, ексудату, відбитки із некротичних ділянок, виразок, паренхіматозних органів. Їх фарбують за Романовським-Гімзою або за Грамом.

Основні етапи проведення мікробіологічних досліджень:

- посіви біологічного матеріалу на поживні середовища;
- виділення чистих культур;
- дослідження факторів патогенності, встановлення патогенності у біопробі;
- вивчення морфологічних, культуральних та біохімічних властивостей;
- визначення систематичного положення виділених бактерій (ідентифікація);
- визначення чутливості до препаратів.

Первинні посіви біологічного матеріалу на твердих поживних середовищах інкубують у термостаті за температури 26°С протягом 24 годин. Для зменшення вологості поверхні агару, чашки готують заздалегідь, підсушуючи їх у термостаті. Для кращої пігментації колоній, що виросли, чашки протягом декількох днів витримують поза термостатом під впливом сонячних променів.

Чисті культури мікроорганізмів одержують шляхом розсіву виділених бактеріальних культур на твердих поживних середовищах МПА, TSA, отримуючи ріст ізольованих колоній. Вивчають морфологічні, тинктуральні та біохімічні властивості виділених штамів, досліджують на наявність дезоксирибонуклеази – фактора патогенності (ДНК–азна активність), у біопробі з'ясовують їх етіологічну роль.

Визначення ДНК-азної активності проводять шляхом посіву культур на ДНК-азо агар. Після 24-48 год культивування у термостаті за температури 26°С чашки Петрі з культурами заливають 0,1н розчином соляної кислоти. Позитивна реакція (довкола колоній бактерій, які володіють ДНК-азною активністю, утворюється прозора зона деполімеризації дезоксирибонуклеїнової кислоти) настає через 3-5 хв.

Реакція аглютинації бактерій. У крові як клінічно здорових, так і хворих риб можна виявити природні та набуті антитіла, зокрема специфічні антитіла (*аглютиніни)*, які накопичуються за інфекційних захворювань та щеплень і викликають злипання бактеріальних клітин, навантажених відповідними антигенами (*аглютиногенами*). При цьому спостерігається утворення дрібнозернистого осаду за рахунок злипання клітин бактерій (О–аглютинація, що зумовлена наявністю О–антигена на поверхні клітин бактерій) або великих пластівців внаслідок з'єднання джгутиків за рахунок наявності джгутикового Н–антигена. Реакцію аглютинації використовують для ідентифікації збудників інфекційних хвороб. Для її проведення використовують діагностикуми, приготовані з культури відповідного мікроорганізму. Реакція аглютинації бактерій поширена у діагностиці бактеріальних хвороб риб.

Запитання для самоконтролю:

1. Особливості відбору патологічного матеріалу для бактеріологічних досліджень.
2. Як проводяться первинні бактеріологічні посіви?
3. Особливості відбору крові на посіви.
4. Основні етапи проведення мікробіологічних досліджень.
5. Для чого використовують реакцію аглютинації бактерій?

Практичне заняття № 3

Тема: Патолого-анатомічний розтин риб

Мета заняття: відпрацювати техніку патолого-анатомічного розтину риб

Матеріали та обладнання: снула риба, набір інструментів для патолого-анатомічного розтину, посудина з водою, мікроскопи, посуд для розтину, обладнання для зважування та вимірювання риби

Завдання:

1. Зробити патолого-анатомічний розтин риби;
2. Оглянути внутрішні органи;
3. Виявити наявність / відсутність патолого-анатомічних змін.

Для розтину беруть 25 екз. цьоголітків або річняків, 10-15 дволітків або дворічок та одиничні екземпляри риб старшого віку.

Патолого-анатомічний розтин має важливе діагностичне значення, до нього вдаються у ході діагностики більшості хвороб риб. Розтину піддають свіжі трупи (зябра без ознак розкладення) і живих риб з клінічними ознаками захворювання. Живих риб потрібно усипити гіпнодином (5-10 мг/дм^3), хлоралгідратом (2-4 г/дм^3) або зруйнувати спинний мозок голкою чи розрізом у ділянці потилиці.

Зябра оголяють видаленням зябрової кришки ножицями. Відмічають ступінь ослизнення, зміну їх кольору та малюнка, наявність крововиливів, осередків некрозу, цист паразитів і т. д. Ножицями відрізають 2-3 дужки і продивляються їх під лупою. Іноді готують препарати окремих пелюсток на предметному склі. Накривають їх покривним склом і визначають товщину складок та патолого-анатомічні зміни.

Зябра костистих риб мають гребінчасту структуру, складаються із 4 зябрових дуг. На кожній дужці назовні виходять зяброві пелюстки (дихальна частина), а всередині – зяброві тичинки (фільтраційний апарат). Скелет зябрових пелюсток складають хрящові промені. В апікальній частині пелюстки розгалужуються на зовнішню та внутрішню гілки. У поперечному напрямі від них відходять численні респіраторні складки (пелюсточки), покриті одношаровим плоским епітелієм і пронизані густою сіткою капілярів. Товщина складок залежить від віку риб і змінюється під впливом різних патогенних факторів (токсинів, паразитів, бактерій та ін.). Тичинки мають кісткову основу і покриті багатошаровим плоским епітелієм з великою кількістю слизових клітин.

Черевну порожнину розтинають за допомогою розрізів, показаних на рисунку 1.

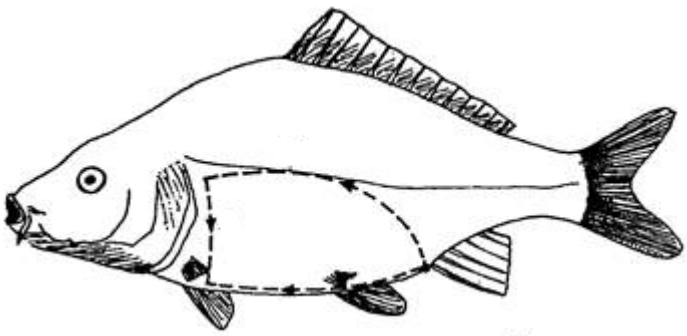


Рис. 1. Розтин риби, контури розрізу черевної стінки

Перший поперечний розріз черевної стінки роблять попереду анального отвору, вставляють тупий кінець ножиць і роблять другий розріз уздовж бічної лінії до ділянки міжщелепового простору. Третій – напівмісяцевий розріз, що проходить по рівню бічної лінії або по реберній дузі, і четвертий проводять по краю зябрової порожнини або зябрової кришки, причому відсікають черевну стінку, оглядаючи внутрішні органи.

Розрізи роблять обережно, щоб не пошкодити внутрішні органи. Спочатку проглядають черевну і серцеву порожнини, звертаючи увагу на їх вміст, наявність рідини (транссудат чи ексудат, кількість, колір, консистенція) або газу, крупних паразитів, зовнішній вигляд внутрішніх органів. У статевозрілих риб відділяють гонади, відмічають їх стадію зрілості, колір, крововиливи, наявність мертвих ікринок (білого кольору) та ін. Потім, підрізаючи кишечник в ділянці псевдодіафрагми і ануса, видаляють комплекс внутрішніх органів, обережно відділяють шлунок (у хижих риб), кишечник, печінку з жовчним міхуром та селезінку.

Органи травлення. У коропових риб ці органи сполучені мезентеріальною клітковиною, кишечник ніби вдавлений у багатолопатеву печінку, шлунок у них відсутній, а кишечник умовно розділений на передній (шлункоподібне розширення), середній і задній відділи. Довжина шлунково-кишкового каналу у мирних риб у декілька разів довша порівняно з довжиною тіла.

У хижих риб шлунок добре виражений, у каудальній частині до нього прилягають пілоричні придатки, кишечник короткий, печінка компактна, розміщена в передній частині черевної порожнини. Підшлункова залоза дифузна, її мікроскопічні острівки розкидані в мезентеріальній клітковині, а в коропових – у печінці, іноді в селезінці.

Селезінка лежить на передньому відділі кишечнику, стрічкоподібна, темно-червоного кольору.

Серцева порожнина відділена від черевної щільною сполучнотканинною перегородкою (псевдодіафрагмою), серце двокамерне, складається із шлуночка, передсердя і додаткових порожнин – венозного синуса й артеріальної голівки. Під час огляду відмічають розмір, форму серця, стан міокарда, ступінь наповнення порожнин кров'ю та її згортання, наявність згустків, крововиливів.

Після видалення плавального міхура оглядають нирки, що лежать уздовж хребта у вигляді стрічки темно-червоного кольору.

Під час огляду плавального міхура визначають його форму, товщину і прозорість оболонок, наявність крововиливів, гельмінтів, плям, ексудату.

Стан паренхіматозних органів (печінки, нирок, селезінки) оцінюють за зовнішніми ознаками: розміром, консистенцією, кольором, кровонаповненням, наявністю крововиливів, осередками некрозу, малюнком на розрізі та ін.

Кишечник розрізають уздовж, промивають у воді, продивляються стан слизової оболонки, враховують гельмінтів та ін.

Черепну коробку розтинають за допомогою чотирьох розрізів, із яких два бокових проходять від носових ямок до потиличної ділянки, третім поперечним відсікають кришку біля носових ямок, а четвертим – у ділянці потилиці. Спочатку проводять зовнішній огляд оболонки головного мозку, потім його видаляють і характеризують стан речовин мозку, його кровонаповнення та ін.

Під час огляду ***скелетної мускулатури*** звертають увагу на колір, консистенцію, наявність крововиливів, набряку, припухлостей, цист паразитів, ступінь прикріплення до кісток.

Патолого-анатомічні зміни зіставляють із клінічними симптомами, виявляють характерний комплекс ознак основного захворювання і супутні ускладнення (хвороби), а також використовують їх для визначення головної та безпосередньої причин загибелі риб. У сумнівних випадках дані розтину уточнюють за допомогою гістологічного дослідження патматеріалу.

Запитання для самоконтролю:

1. Кількість риб кожної вікової групи для патолого-анатомічного розтину.
2. Розтин черевної стінки риб.
3. Особливості огляду внутрішніх органів риб.
4. Які основні відмінності у будові травної системи рослиноїдних і хижих видів риб?
5. Особливості огляду скелетної мускулатури риб.

Практичне заняття № 4

Тема: Формування паразитофауни риб

Мета заняття: ознайомитися із закономірностями формування паразитофауни риб

Матеріали та обладнання: вологі препарати паразитів риб, наочні матеріали (таблиці, схеми)

Завдання:

1. Вивчити закономірності формування паразитофауни риб;

2. Вивчити термінологію показників для статистичного опрацювання отриманих даних.

Формування паразитофауни риб, тобто сукупності паразитів у риб одного виду в межах його ареалу, відбувається за певними закономірностями і залежить від характеру водойми, її розміру, проточності, гідрологічних та гідрохімічних характеристик, паразитофауни джерела водопостачання, температури водного середовища, кліматичної зони, гідробіологічних особливостей, солоності, зв'язку чи ізоляції з іншими водоймами, від фауни безхребетних (проміжних живителів багатьох паразитів) та від хребетних – остаточних хазяїв паразитів, розповсюджувачів інвазії. Прямий чи опосередкований вплив мають ґрунти, характер рослинності, ступінь та щільність заростання, біологія риб-хазяїв, процеси інтенсифікації. Впливає на склад ендопаразитів риб і живлення, склад корму. Кожен вид паразита має морфобіологічну специфіку. Формування паразитофауни відбувається, переважно, на першому році життя риб.

Тільки у прісноводних риб, на сьогодні, виявлено близько 2000 видів паразитів. Проте у риб у разі вирощування в умовах ставових господарств значно менше видове різноманіття паразитів (10-20 видів), оскільки паразитофауна риб за їхнього утримання у контрольованих умовах набагато бідніша, ніж паразитофауна того самого виду із природних водойм. Так, у коропа в умовах ставового вирощування відомо близько 40 видів паразитів, водночас у коропа промислових водойм їх зареєстровано майже вдвічі більше.

Порівняно з великими водоймами, де фауна гідробіонтів багатша, паразитофауна більш різноманітна, у невеликих – чисельність окремих видів паразитів, для яких є сприятливі умови, може бути значною (наприклад ектопаразитів). У водоймах з низькою проточністю (стави, водосховища) накопичення інвазивних стадій розвитку паразитів відбувається швидше, ніж у проточних (річках, струмках і т. ін.). У ставах чисельність паразитів з прямим циклом розвитку зростає швидше, ніж тих, які потребують для свого розвитку наявність проміжних хазяїв. Склад паразитофауни залежить і від віку риби, характеру її живлення, імунофізіологічного стану.

Встановлено, що першими паразитами молоді риб є найпростіші (інфузорії, джгутиконосці) та гельмінти з прямим циклом розвитку – моногенеї, оскільки характер поверхневих покривів у цей час сприятливий для їх розвитку. Паразити із складним циклом розвитку з'являються після переходу риби на активне живлення планктонними або бентосними організмами, серед яких є проміжні живителі багатьох гельмінтів.

Одноманітність паразитофауни риб в аквакультурі залежить як від порівняно невеликих розмірів водойм, так і періодичного осушенення ставів, дезінфекції їх ложа та інших меліоративних заходів. На чисельність паразитів, особливо ектопаразитів з прямим циклом розвитку, значно впливають процеси інтенсифікації, зокрема збільшення щільності посадки риб під час вирощування, а також склад паразитофауни джерела

водопостачання.

Різноманітність паразитофауни прісноводих риб найбільша навесні і восени. У весняні місяці при підвищенні температури створюються сприятливі умови для розвитку паразитів із прямим циклом розвитку, дозрівання яєць, цист і личинок. У літні місяці багато паразитів із складним циклом проходять стадії розвитку в організмі проміжних живителів.

Паразитофауна риб є чутливим індикатором екологічного стану водних екосистем. В цьому зв'язку її вивчення, аналіз паразитологічної ситуації у рибогосподарських водоймах може бути важливим елементом біомоніторингу. Процеси їх евтрофікації та дистрофікації внаслідок забруднення впливають на представників усіх фауністичних комплексів, зменшуючи різноманітність видового складу. На тлі загального збіднення паразитофауни риб може спостерігатися її збагачення у найбільш масових аборигенних видів (окуня, плітки, ляща та ін.). Це, на перший погляд, парадоксальне явище пояснюється загальною бідністю гідрофауни, коли обмежена чисельність кормових об'єктів змушує рибу розширювати спектр живлення, що в свою чергу сприяє збільшенню видового різноманіття її паразитів. Таким чином, спостерігається зміна екології риб, яка зумовлена антропогенним фактором.

Для об'єктивного оцінювання паразитологічної ситуації потрібно не тільки провести клінічний огляд та патолого-анатомічне дослідження риби, але і визначити такі показники для статистичного опрацювання отриманих даних:

- *екстенсивність інвазії* (відношення кількості інвазованих риб до загальної чисельності обстежених особин того самого виду подана у відсотках);
- *інтенсивність інвазії* (кількість паразитів одного і того самого виду на одну інвазовану рибу); інтенсивність інвазії переважно вказують двома цифрами, які відповідають мінімальній та максимальній кількості паразитів, виявлених на одну особину, обстежених риб (наприклад: 2-7 екз./рибу).
- *індекс рясності* (середнє число паразитів на одну досліджену рибу).

За інтенсивністю та екстенсивністю інвазії визначають наявність інвазійного захворювання чи можливість його виникнення.

Запитання для самоконтролю:

1. Коли відбувається формування паразитофауни риб?
2. Від чого залежить склад паразитофауни риб?
3. Паразитофауна риб як індикатор екологічного стану водойм.
4. Чим зумовлена зміна екології риб у водоймах?
5. Екстенсивність та інтенсивність інвазії, індекс рясності.

Практичне заняття № 5

Тема: Вплив паразитів на організм риби. Видова специфічність паразитів

Мета заняття: ознайомитися із впливом паразитів на організм риб та їх видовою специфічністю

Матеріали та обладнання: жива риба, набір інструментів для препарування, мікроскопи, визначники паразитів риб

Завдання:

1. Виявити наявність / відсутність механічної дії на організм риб зумовлену паразитами;
2. Виявити наявність / відсутність тканинних реакцій на тілі риб зумовлених паразитами;
3. Навчитися працювати з визначниками риб.

З спільного співіснування паразит та його хазяїн (риба) знаходяться в антагоністичних стосунках, особливості яких визначаються сукупністю біологічних і фізіологічних процесів, що відбуваються в період розвитку паразита, захисними механізмами та реакціями макроорганізму.

Механічна дія. Паразити органами прикріплення (присосками, ботріями, хітиновими дисками, гачками тощо) при фіксації до поверхні тіла, зябер, стінок кишкового тракту можуть викликати механічне подразнення та ушкодження, руйнувати епітеліальні покриви секретом отруйних залоз, спричинюючи появу виразок тощо. Так, у разі масового ураження поверхневих покривів риб ектопаразатами *(Ichthyobodo necator, Chilodonella cyprini, Gyrodactylus sp.* та ін. видами) спостерігаються посилення секреції слизу та значне ослизнення, утворення блакитно-білого щільного нальоту, що призводить до порушення дихальної функції шкіри і процесів кровообігу. У місцях прикріплення паразитичних рачків, зокрема збудників лернеозу *(Lernaea cyprinacea, L. elegans)*, аргульозу *(Argulus foliaceus, A. japonicus* та ін.), на поверхні тіла риб виникають виразки, а запальний процес охоплює як поверхневі шари, так і м’язеву тканину.

Закупорювання капілярів зябер грибком *Branchiamyces sanguinis* і яйцями трематоди *Sanguinicola inermis*, руйнування тканини зябрових пелюсток збудниками ергазильозу, синергазильозу, дактилогірозу може призвести до некрозу та відмирання їх окремих ділянок, ускладнення функціонування зябер. У разі масового зараження риби гельмінтами (кавіями, каріофілеусами, ботріоцефалами, скребликами та ін.) травмується слизова оболонка, спостерігаються геморагії, запалення, порушення травлення, а значне скупчення гельмінтів може призвести до закупорювання кишкового тракту. Механічні ушкодження паразитами можуть спостерігатися і в інших органах риб (нирки, печінка, гонади). Так, плероцеркоїди стьожкових червів з родів *Ligula* та *Digramma*, сягаючи значних розмірів, викликають деформацію внутрішніх органів, порушення функції плавального міхура, атрофію гонад, розрив стінок черевної

порожнини, загальну інтоксикацію. Плероцеркоїди цестоди *Triaenophorus nodulosus*, інкапсулюючись у печінці риби, викликають утворення щільних капсул, переродження її тканин, некротизацію окремих ділянок органу. Нематода *Hepaticola petruschewskii*, паразитуючи у печінці лососевих, коропових, сомових та ін. риб, ушкоджує її паренхіму, призводить до зміни структури гепатоцитів.

Тканинні реакції виявляються у вигляді різного роду розростань, утворення капсул навколо збудника чи його личинок: на зябрах за ураження глохидіями, на поверхні кишкового каналу за вузликового кокцидіозу, в печінці за трієнофорозу, у м'язовій та епітеліальній тканині за постодиплостомозу.

Токсичний вплив. Інтоксикація організму риби може відбуватися як під дією секретів спеціалізованих отруйних залоз, так і під дією продуктів обміну речовин збудника. Так, секрет дії спеціалізованої ядовитої залози ротового апарату аргулюсу не тільки сприяє руйнуванню епітелію поверхневих покривів, але і викликає загальну інтоксикацію організму, що може стати причиною загибелі молоді риб.

Живлення за рахунок організму хазяїна (живителя). Паразити ростуть та розвиваються за рахунок хазяїна, використовуючи частину поживних речовин його організму. За значних інвазій, особливо у цьоголіток, сповільнюється темп росту, знижується коефіцієнт вгодованості, а продукти життєдіяльності паразита викликають інтоксикацію, порушення гематологічних та біохімічних показників, загальне виснаження організму, а інколи і масову загибель риби.

При тривалому співіснуванні паразита та живителя, внаслідок адаптації виникає рівновага, за якої чисельність паразита не досягає значної кількості, що не завдає відчутної шкоди організму хазяїна. Але в аквакультурі за надмірної щільності об'єктів вирощування знижується їх імунофізіологічний статус, створюються сприятливі умови для розвитку паразитів. При цьому збільшується інтенсивність та екстенсивність інвазії, що призводить до виникнення хвороби і загибелі частини інвазованих особин.

За інтродукції та акліматизації нових об'єктів рибництва у випадках утворення нової системи паразит-хазяїн, коли відсутня їх взаємна пристосованість, внаслідок патогенності паразита, спостерігається значний негативний вплив на організм риби, що призводить до виникнення інвазійного захворювання та масової її загибелі. Прикладом можуть бути гельмінти роду *Bothriocephalus*, завезені за інтродукції рослиноїдних риб.

Знання загальних закономірностей формування системи паразит-хазяїн-зовнішнє середовище, їх взаємовпливу дозволяють об'єктивно оцінити епізоотичну ситуацію водних екосистем, штучних чи природних іхтіоценозів.

Для ефективного ведення рибного господарства, профілактики інвазій, необхідно контролювати видовий спектр та чисельність паразитів об'єктів вирощування, що можливе тільки за регулярного іхтіопатологічного обстеження риби, яке включає і паразитологічні дослідження.

Видова специфічність паразитів

Істотний вплив на можливість виникнення інвазійного захворювання має така особливість паразитичних організмів, як їх специфічність – вибірковість паразитів щодо певних видів живителів. Вузька або чітко визначена видова специфічність, характерна для паразитів, що пристосувалися до паразитування тільки на одному або невеликій кількості видів риб. Є паразити, що не виявляють вузької специфічності, широко розповсюджені і зустрічаються на різних видах риб або мають відносну специфічність.

До паразитів, які мають вузьку специфічність, відносять збудників моногеноїдозів, деяких паразитичних рачків, нематодів. Так, представники роду *Sinergasilus* зустрічаються лише у рослиноїдних риб.

Широка специфічність характерна для деяких інфузорій, цестод, трематод та ін. Специфічність паразитів визначає і заходи, спрямовані на запобігання тим хворобам, які вони викликають.

Запитання для самоконтролю:

1. Механічна дія паразитів на організм риб.
2. Як проявляються тканинні реакції організму риб?
3. Видова специфічність паразитів.
4. Паразити риб із вузькою специфічністю.
5. Паразити риб із широкою специфічністю.

Практичне заняття № 6

Тема: Техніка виконання повного паразитологічного розтину риб

Мета заняття: виконати повний паразитологічний розтин риби

Матеріали та обладнання: жива риба, набір інструментів для паразитологічного розтину, посудина з водою, мікроскопи, посуд для розтину, обладнання для зважування та вимірювання риби

Завдання:

1. Виконати повний паразитологічний розтин риби;
2. Виявити паразитів риб;
3. Мікроскопічно дослідити паразитів риб;
4. Відібрати кров риб на виявлення кровопаразитів.

Місцем локалізації різних паразитів можуть бути всі частини тіла риби, порожнини, тканини і органи, а також кров і слизові виділення, однак найбільше паразитів можна виділити на зябрах, шкірі і кишечнику. Кількість паразитів, які заселяють той чи інший орган риби, може бути різною – від поодиноких екземплярів до сотень, тисяч. Більшість паразитів, будучи нешкідливими у малих кількостях, стають досить небезпечними при масовій інвазії, особливо найпростіші, гельмінти і ракоподібні. Правильно виконані паразитологічні дослідження дозволяють своєчасно виявити в організмі риб

збудників інвазійних хвороб, що має велике значення для рибоводної практики.

В іхтіологічній практиці використовується як метод повного паразитологічного розтину, розроблений К.І. Скрябіним і модифікований стосовно до риб В.А. Догелем та його школою, так і метод, розроблений О.П. Маркевичем. Нерідко приходять і до неповного паразитологічного дослідження, виходячи із певних задач, наприклад, вивчення конкретного паразитарного захворювання або експертизи риби з метою виявлення личинок паразитів небезпечних для людини і тварин і т. д. У кожному випадку необхідно обговорити і вказати характер досліджень.

Метод повного паразитологічного розтину є досить трудомістким, так як протягом робочого дня дослідник може цим методом оглянути 3-5 екз. риб середнього розміру (личинок і мальків значно більше). Щоб зробити вірогідне заключення про видовий склад виявлених паразитів необхідно зробити розтин не менше 10-20 екз. молоді риби (із кожного ставу) і 5-10 екз. більш старших вікових груп.

Для повного паразитологічного розтину придатна риба тільки жива або свіжоснула і відловлена із різних ділянок водойми, так як хвора риба може скупчуватись в певних місцях. Розтин кожної риби протоколюється протоколом відповідної форми.

Вимірювання і зважування риби потрібно проводити якнайшвидше. Потім можна брати луску для визначення віку. Огляд органів проводять у певній послідовності згідно протоколу, але порядок огляду внутрішніх органів може бути змінений в залежності від виду і віку риби. Під час роботи необхідно стежити, щоб органи не обсихали, постійно їх зволожувати водою, а дрібні прикривати чашкою Петрі.

У процесі розтину періодично потрібно промивати водою інструменти і протирати їх сухою марлею, щоб випадково не перенести паразита з одного органу на інший.

Зовнішній огляд крупної риби найкраще проводити, поклавши її в кювету з невеликою кількістю води, а дрібних риб зручно оглядати в чашці Петрі або наколоти на парафінову коркову дощечку. При зовнішньому огляді можна помітити плями, нашарування, пухлини та інші відхилення від норми. Вони повинні бути детально записані в протоколі – графа «примітка». Уважно оглядають покрови шкіри та луску. Плавці відтягують від тіла, розглядають на світло, потім відрізають і у невеликій кількості води досліджують на склі під лупою. Зіскріб слизу з плавців, поверхні тіла потрібно проглядати під малим, середнім та великим збільшенням мікроскопу.

Виявлені на шкірі і плавцях паразити частково досліджуються у живому вигляді і окрім того, їх необхідно консервувати. На поверхні тіла і плавцях паразитують найпростіші, рачки, п’явки і личинки молюсків. Для остаточного визначення виду нерідко потрібно фіксувати паразитів. Найпростіших фіксують рідиною Шаудина в мазках на покривних скельцях, більш крупних паразитів знімають пінцетом або голкою і за групами

поміщають в окремі солонки, годинникові скла або кристалізатори з водою і які мають тимчасові етикетки, на яких вказані номер досліджуваної риби, дата дослідження, орган, локалізація і кількість паразитів. Фіксують крупних паразитів – 70° етанолом, 4-10-% формаліном, компресуючи їх між склами. Великого значення для іхтіопаразитологічної практики має точний підрахунок паразитів кожного виду в абсолютних кількостях або в полі зору мікроскопа за певних умов. Личинок риб які недавно виклюнулись із ікри можна цілими притиснути між двома склами до прозорості і розглянути під лупою, бінокулярним або звичайним мікроскопом.

Кров у риб можна брати декількома способами: безпосередньо із серця пастерівською піпеткою, із хвостової артерії або судин зовнішньої зябрової дуги. Кровопаразитів можна вивчати у свіжих мазках (з додаванням лимоннокислого натрію, гепарину) і пофарбованих за Романовським або за Паппенгеймом.

Рис. 2. Взяття крові із хвостової артерії

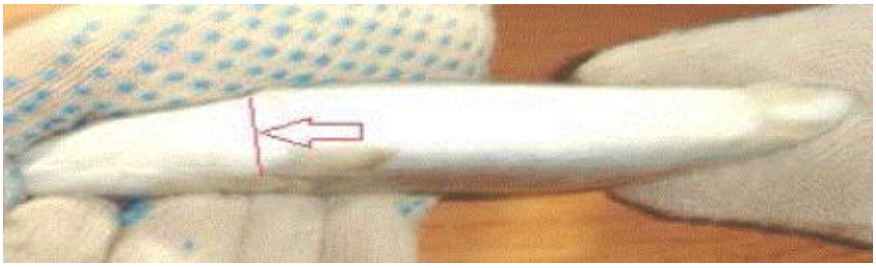


Рис. 3. Місце для взяття крові із серця

Рис. 4. Взяття крові із зябрової дуги

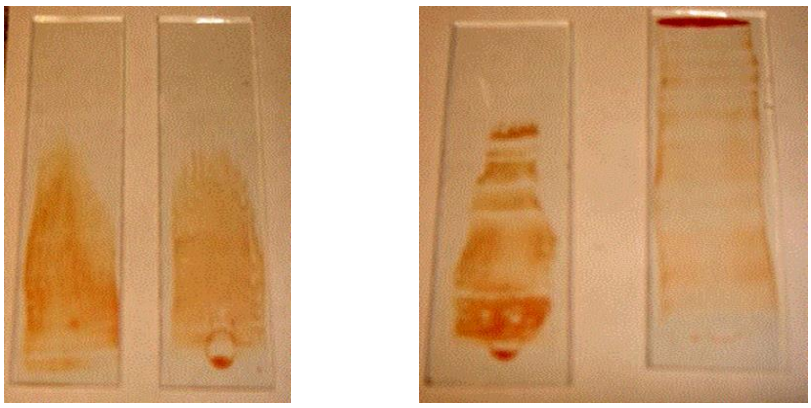


Рис. 5. Мазки крові риб: якісний (ліворуч) і неякісний (праворуч)

Дослідження очей: для виявлення паразитів у очах риб спочатку слід їх оглянути ззовні, а потім вийняти очне яблуко із орбіти, покласти на скло, надрізати гострими ножицями з боку протилежного передній камері і розглядати при слабкому збільшені мікроскопа вмістиме задньої камери ока (скловидне тіло) затиснувши його між двома скельцями. Кришталик проглядається окремо між склами.

Дослідженню підлягають обидва ока. В очах можна вивити личинки присиснів і круглих червів.

Нюхові ямки: досліджують за допомогою очної піпетки, примиваючи водою їх заглиблення і слиз проглядають під малим і великим збільшенням мікроскопа, де можуть бути виявлені триходини, гіродактилюси.

Ротову порожнину оглядають за допомогою ручної лупи.

Зябра: для паразитологічного дослідження знімають зяброву кришку, оглядають зяброву порожнину і ножицями вирізають почергово всі зяброві дуги. При цьому рибу слід тримати вертикально, головою догори, бо інакше, кров заллє зябра і ускладнить подальшу роботу.

Зяброві дуги із зябровими пелюстками зручно розглядати на препарувальному склі під лупою, користуючись двома препарувальними голками. Необхідно час від часу зволожувати здорові пелюстки водою.

Виявлених паразитів знімають із зябер тонким пінцетом, тонкою відтягнутою піпеткою, або скребуть скальпелем і розкладають по солонках. Оглянувши кожну зябру під лупою, ножицями або скальпелем відрізають від дуги здорові пелюстки біля їх основи і на відокремленні пелюстки кладуть згори предметне скло, стискають їх до прозорості і розглядають під малим збільшенням мікроскопу. Це дає можливість додатково виявити тих паразитів, яких не видно під лупою. Потім мазки слизу зябрових пелюстків досліджують під великим збільшенням. Так, поступово, одну за іншою досліджують всі зяброві дуги з обох сторін голови. На зябрах можна виявити зяброві цисти різних спорових слизовиків, інфузорій, моногенетичних присиснів, метацеркарій, п’явок, паразитичних веслоногих, паразитичних личинок та ін.

Порожнину тіла: риби розтинають, тримаючи її у лівій руці черевцем догори роблять поперечний надріз м’якої шкіри, ледь відступивши вперед до

анального отвору. У проріз вводять тупий кінець ножиць і розрізають черевну стінку до заднього краю ротової щілини, при цьому стараючись запобігти пошкодженню внутрішніх органів. Другий надріз роблять від рівня анального отвору і ведуть його вздовж лінії прикріплення ребер до заднього кута зябрової кришки. Після цього ліву стінку тіла відрізають, при цьому розкриваються внутрішні органи.

Необхідно оглянути серозні покрови внутрішніх органів, жирову тканину. Відмітити відхилення від норми, наявність ексудату, трансудату, збільшення внутрішніх органів проти норми. Крупних паразитів видаляють із порожнини тіла і після цього можна приступати до обстеження самих внутрішніх органів.

У порожнині тіла риби на її серозних покровах на поверхні органів паразитують, головним чином, личинки плероцеркоїд і стьожковиків, лентеців, ременців, личинки лігул, метацеркарії трематод, личинки круглих червів, личинки скреблянок, а у порожнині тіла осетрових риб зустрічаються статевозрілі *Amphilina*.

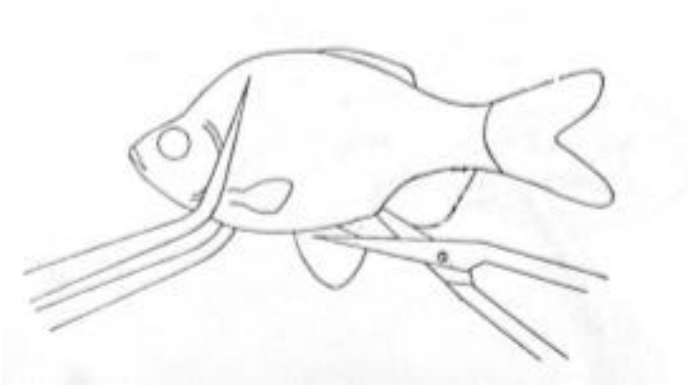


Рис. 6. Вентральний розріз черевної стінки (із Amlacher, 1961)

Серце: спочатку зручно провести розтин білясерцевої сумки та ізолювати серце разом з крупними судинами у глибоке годинникове скло з фізіологічним розчином, оглянувши серце зовні, його розтинають, а осад який утворився, мікроскопують на наявність збудника сангвінікольозу. Стінки серця, як і інші органи досліджуються компресорним методом. Нерідко також можна виявити цисти мікроспоридій, метацеркарій *Tetracotyle*.

Сечовий міхур: виділяють цілком, кладуть на годинникове скло, обережно розтинають, окремо досліджують рідину з міхура, потім роблять зіскріб із внутрішньої оболонки і мікроскопіюють. Стінка сечового міхура досліджується компресорним способом. У сечовому міхурі можуть паразитувати інфузорії, плазмодії слизових споровиків із роду *Myxidium* дигенетичні присисні.

Після розтину сечового міхура відпрепаровується комплекс органів травної системи (задня кишка захоплюється пінцетом і обрізається біля заднього проходу). Кишечник, печінка, селезінка, а також жирове тіло з

панкреатичними залозами і очеревина. Ці органи обережно відокремлюються один від одного і досліджуються у встановленому порядку.

Жовчний міхур: відокремлюється від внутрішньої сторони печінки яка прилягає до кишечника. Стінки його проглядаються між склами під лупою і мікроскопом, жовч досліджується окремо у годинниковому склі і мазках з метою виявлення личинок стьожковиків-цистицерків, слизових споровиків роду *Chloromyxum, Spherospora, Ceratommyxa*.

Печінку: спочатку слід оглянути зовні з допомогою ручної лупи, при цьому можна помітити цисти присиснів *Tetracotyle*, крупні цисти з плероцеркоїдами *Triaenophorus*, личинки круглих червів із родини *Anisakidae*. Тканина печінки проглядається компресійним методом під збільшенням лупи і мікроскопа.

Селезінка: досліджується таким же способом, як і печінка, в ній можна виявити цисти міксоспоридій.

У жировій тканині і очеревині, рівно як і на поверхні порожнинних органів, паразитують слизові споровики, личинки присиснів *Tetracotyle*, личинки стьожковиків, круглих червів і скреблянок.

Травний тракт: зручніше вирізати цілком (від стравоходу до ануса) і покласти на велике препарувальне скло або кювету, потім стінку травного каналу розрізають ножицями вздовж і розгортають внутрішньою стороною назовні. Насамперед видаляють крупних паразитів, яких видно неозброєним оком, стьожковиків, скреблянки і нематоди. Наступний огляд зручніше проводити за частинами, починаючи від заднього кінця до переднього. Скальпелем роблять глибокий скребок із слизової кишечника і шлунку, і досліджують під лупою і мікроскопом. Компресорно досліджується і стінка кишечника. Для виявлення кишечних найпростіших *Octomitus* і *Eimeria*. Мазки проглядають під великим збільшенням. Особливо обережно потрібно досліджувати пілоричні придатки, щоб не ушкодити гельмінтів і насамперед стьожковиків.

Паразитів, видалених з різних відділів кишечника, бажано поміщати в окремі пробірки з відповідними етикетками. Корисно оглянути із шлунку (кишечнику) риби залишки їжі.

Статеві залози: як і всі інші органи, спочатку оглядають зовні, а потім частинами між склами під лупою і мікроскопом. Ікринки можуть бути інвазовані мікроспоридіями, міксоспоридіями, а у щук між ікринками можуть паразитувати плероцеркоїди (личинки) стьожака широкого.

Плавальний міхур: зовнішню волокнисту оболонку плавального міхура знімають і паразити, які знаходяться в стінці плавального міхура та його порожнині, добре видно під мікроскопом і навіть неозброєним оком. У порожнині міхура у лососевих риб нерідко можна виявити круглі черви із роду *Cystidicola*. У товщі стінок плавального міхура локалізуються інцистовані личинки *Tetracotyle*, нематоди роду *Philometra*, цисти *Myxosporidia*.

Нирки: останніми із внутрішніх органів досліджуються нирки. Вони настільки крихкі, що часто їх не вдається відпрепарувати в цілому вигляді.

Тому найчастіше доводиться витягувати їх шматочками, які стискаються між двома склами і тоді розглядають. Особливо ретельно потрібно оглядати вивідні канальці і сечоводи, в яких можна зустріти личинок *Tetracotyle* із роду *Phyllodistomum*, міксоспоридій, стьожаків і кокцидії.

Мускулатура: для дослідження м'язів потрібно зняти шкіру і оглянути її внутрішню поверхню, а також оголену мускулатуру, де часто можна зустріти метацеркарій *Posthodiplostomum cuticola*, статевозрілих філометр, слизових споровиків. З метою виявлення паразитів у більш глибоких шарах мускулатури необхідно розрізати м'язи на пластівці, а невеликі шматочки можна мікроскопіювати за допомогою компресоріума. Таким способом можуть бути виявлені личинки паразитів небезпечних для людини (збудники опісторхозу, дифілоботріозу).

У головному і спинному мозку досить рідко можна виявити паразитів. Для вилучення головного мозку, необхідно зробити розтин черепа. Спинний мозок вилучають із каналу за допомогою дротика. Для цього перерізають хребет в його задній частині і канал спинного мозку стає відкритим як спереду, так і позаду, дротиком виштовхують вміст каналу.

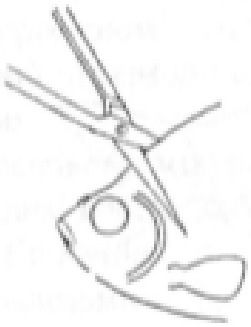


Рис. 7. Проведення розрізу потилиці (із Amlacher, 1961)

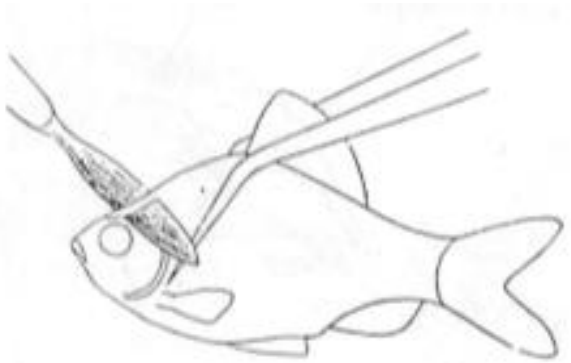


Рис. 8. Краніальний розріз

Хрящ: скелет молодих риб попередньо потрібно очистити від прилеглих тканин і шматочками скласти в годинникове скло з водою і подрібнити маленькими кривими ножицями. Потім рідину відсмоктують

піпеткою і мікроскопують під великим збільшенням. Цим методом користуються при діагностиці міксозомозу лососевих.

Рис. 9. Місця на тілі риб для проведення зіскрібків на шкірі (стрілки подають напрям ведення шпателя) (із Amlacher, 1961)

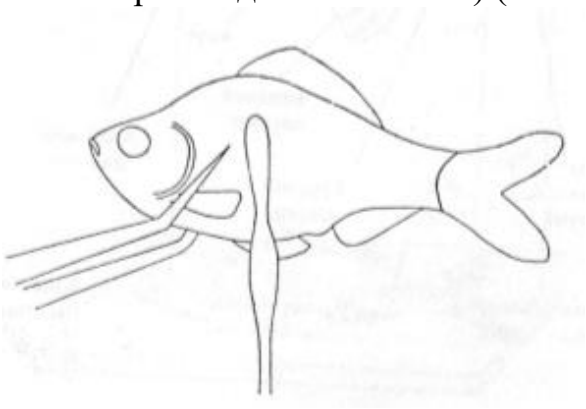


Рис. 10. Зіскріб на шкірі з боку тіла (із Amlacher, 1961)

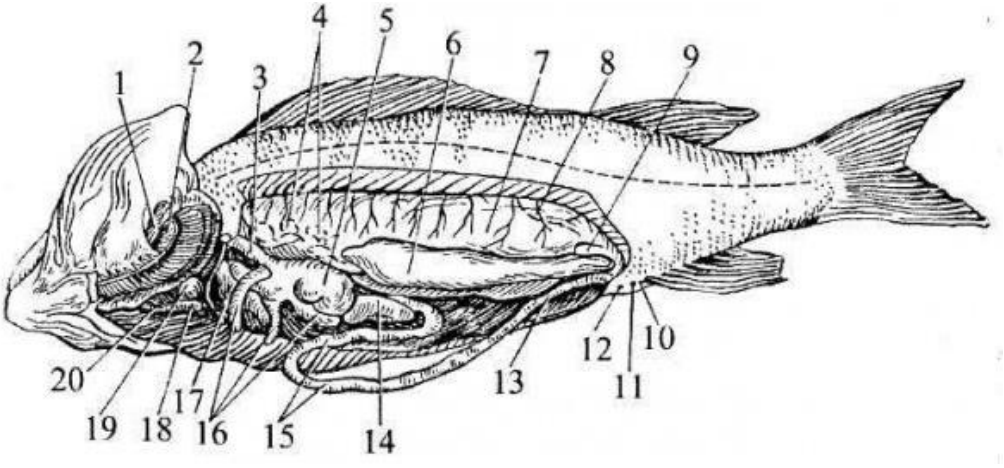


Рис. 11. Загальна топографія внутрішніх органів окуня (за Гуртовим М.М., 1976): 1 – несправжня зябра; 2 – зябра; 3 – стравохід; 4 – місце розташування газової залози; 5 – шлунок; 6 – статева залоза; 7 – плавальний міхур; 8 – місце розташування овала; 9 – сечовий міхур;

10 – сечовий отвір; 11 – статевий отвір; 12 – анальний отвір; 13 – пряма кишка; 14 – селезінка; 15 – кишечник; 16 – пілоричні придатки; 17 – печінка; 18 – передсердя; 19 – шлуночок серця; 20 – цибулина аорти

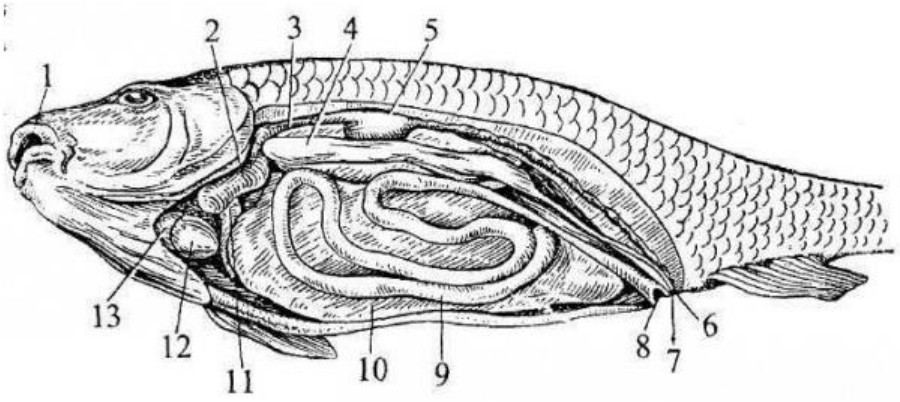


Рис. 12. Загальна топографія внутрішніх органів коропа (за Гуртовим М. М., 1976 р.): 1 – ротовий отвір; 2 – головна нирка; 3 – плавальний міхур; 4 – статева залоза; 5 – нирка; 6 – сечовий отвір; 7 – статевий отвір; 8 – анальний отвір; 9 – кишечник; 10 – печінка; 11 – стравохід; 12 – передсердя; 13 – цибулина аорти

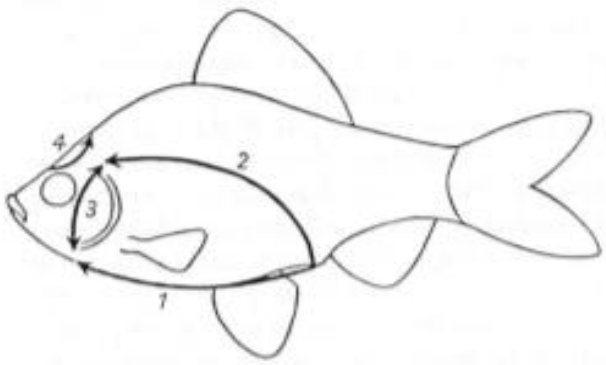


Рис. 13. Проведення розрізів при розтині риб (із Amlacher, 1961): 1 – вентральний розріз; 2 – латеральний розріз; 3 – оперкулярний розріз; 4 – краніальний розріз

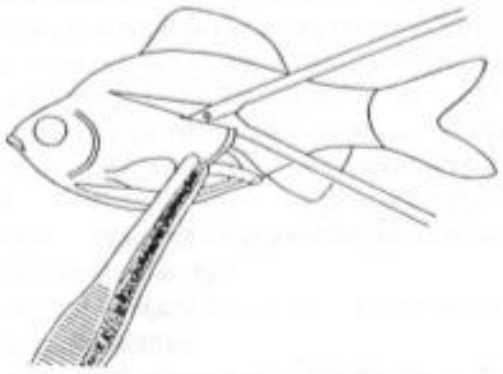


Рис. 14. Латеральний розріз

Рис. 15. Оперкулярний розріз

Запитання для самоконтролю:

1. Локалізація різних паразитів риб.
2. Науковці, які розробляли метод повного паразитологічного розтину.
3. Яка риба придатна для повного паразитологічного розтину?
4. Якими документами супроводжується розтин риб?
5. Паразитологічне дослідження внутрішніх органів.

Практичне заняття № 7

Тема: Оформлення протоколу повного паразитологічного розтину риб

Мета заняття: навчитися заповнювати форму протоколу повного паразитологічного розтину риб

Матеріали та обладнання: жива риба, мікроскопи, набір для розтину риб, форма протоколу повного паразитологічного розтину

Завдання:

1. Зробити розтин риби;
2. Виявити і дослідити мікроскопічно паразитів;
3. Заповнити форму повного паразитологічного розтину.

Форма протоколу повного паразитологічного розтину риб

Дата дослідження _____
Водойма і місце вилову риби _____
Назва риби (місцева і латинська) _____
Номер риби (порядковий) _____
Розмір: довжина, висота, обхват _____
Стать риби _____

№ п/п	Найменування	Кількість паразитів і попереднє визначення	Остаточне визначення до виду	Примітка
1	**2**	**3**	**4**	**5**
1.	Кров			
2.	Луска			

3.	Шкіра			
4.	Плавці			
5.	Нюхові ямки			
6.	Очі			
7.	Ротова порожнина			
8.	Зябра			
9.	Порожнина тіла			
10.	Серце			
11.	Сечовий міхур			
12.	Брижа			
13.	Жирова тканина			
14.	Селезінка			
15.	Статеві залози			
16.	Печінка			
17.	Жовчний міхур			
18.	Підшлункова залоза			
19.	Шлунково-кишковий тракт (стравохід): шлунок, пілоричні придатки, кишечник: передній і задній відділи			
20.	Плавальний міхур			
21.	Нирки			
22.	Сечоводи			
23.	Головний мозок			
24.	Спинний мозок			
25.	Мускулатура			
26.	Хрящі			

Запитання для самоконтролю:

1. Найменування органів, тканин, частин тіла які відповідно до форми протоколу повного паразитологічного розтину підлягають дослідженню.
2. Особливості остаточного визначення паразитів до виду.
3. Які дані можна вносити до графи «примітка»?
4. У яких водоймах дозволяється виловлювати риб для паразитологіного дослідження?
5. Значення повного паразитологічного розтину риб.

Практичне заняття № 8

Тема: Імунологічна реактивність у риб за впливу різних чинників

Мета заняття: ознайомитися із особливостями прояву імунологічної реактивності у риб за впливу різних чинників

Матеріали та обладнання: довідники, таблиці, схеми

Завдання:

1. Вивчити фактори які впливають на імунологічну реактивність організму риб;
2. Вивчити механізми імунітету риб.

У риби спостерігається залежність різних проявів імунологічної реактивності від абіотичних чинників зовнішнього середовища, в першу чергу від температури та екологічних особливостей виду, що принципово відрізняє їх від теплокровних тварин. Так, за температури води нижче 10°С у риб переважає дія механізмів виділення та бактерицидність тканин і органів. У разі підвищення температури активізується фагоцитоз і утворення антитіл. Важлива роль температурного чинника у визначенні напруги вродженого імунітету, а отже і рівня сприйнятливості чи стійкості до хвороби, знаходить своє віддзеркалення в існуванні чітко вираженої сезонності епізоотії інфекційних та інвазійних хвороб. До того ж слід мати на увазі, що сезонну динаміку має не тільки фізіологічний стан риби, який визначає напруженість її природного імунітету, але і фізіологічний стан збудника хвороби, що визначає його чисельність.

На імунологічну реактивність організму риб впливає і фактор вгодованості. За згодовування якісного, збалансованого корму імунологічна реактивність вгодованих риб вища, ніж у виснажених. В усіх випадках голодування значно підвищує чутливість організму до збудників заразних хвороб унаслідок порушення нормальної діяльності органів і тканин та зниження захисних сил організму.

На сприйнятливість риб до окремих хвороб впливає і їх вік. Короп у віці до одного року несприйнятливий, як правило, до віспи, що вказує на наявність вікового імунітету, але дворічки і старші вікові групи часто хворіють на віспу. До краснухи найбільш чутливі трилітки, оскільки під час статевого дозрівання відбувається перебудова організму, яка зумовлює зниження резистентності до інфекції.

Є дані про наявність імунітету і до окремих інвазійних хвороб (іхтіофтиріозу, дактилогірозу), але його механізми мало вивчені. За вказаних інвазій напруженість імунітету зберігається протягом 2-3-х тижнів, а потім знижується.

Отже, *найбільш важливі механізми імунітету у риб, які виявлені на сьогодні є:*

- механізм виділення, коли за певних температур сторонні речовини, що проникають у кров, поступово виводяться із організму через органи виділення;
- фагоцитоз, активність якого зростає з підвищенням температури води (у межах оптимальної) та в імунізованих риб;
- бактерицидність тканин і органів, яка зумовлена наявністю біологічно активних речовин – гуморальних факторів (лізоцим, система комплементу, пропердин тощо);
- здатність продукувати антивірусний білок – інтерферон;
- здатність продукувати антитіла у відповідь на антигенне подразнення.

Імунопрофілактика

Напруженість імунітету підвищується під впливом штучної імунізації вакцинами, гамма-глобулінами, імунними сироватками. Імунопрофілактика заснована на імунологічній специфічності і «пам'яті». У відповідь на введення вакцини в організмі риби продукуються специфічні антитіла і при її зараженні цим збудником у процесі вирощування активуються клітини «пам'яті», швидко викликаючи повторне утворення антитіл, які нейтралізують збудника, утворюючи імунний комплекс.

Основний метод імунізації риб – включення в корм ослаблених форм антигенів. Дво- і триразова вакцинація риби більш ефективна ніж одноразова. Вакцинація збільшує активність як неспецифічних факторів (переважно завершеного фагоцитозу), так і титрів антитіл у крові.

У виробничих умовах застосовують вакцини проти вібріозу, фурункульозу, ієрсиніозу, а також проти інфекційного некрозу підшлункової залози і вірусної геморагічної септицемії. Широке застосування парантеральної імунізації в умовах товарного виробництва риби економічно недоцільно. У лабораторній діагностиці для виявлення антигену (тобто збудника), потрібно мати діагностичні антитіла, які одержують шляхом імунізації тварин, а також у разі штучного інфікування відповідним збудником.

Для підвищення неспецифічної резистентності в організм риб вводять імуномодулятори, які підвищують активність імунологічних реакцій, у тому числі клітинних і гуморальних факторів імунітету. До них належать і пробіотики – препарати комплексної дії, а також вітаміни С, Е та А, що підвищують резистентність організму.

Запитання для самоконтролю:

1. Що впливає на імунологічну реактивність організму риб?
2. Механізми імунітету у риб.
3. Яким способом одержують діагностичні антитіла?
4. Імунопрофілактика та її значення.
5. Імуномодулятори та їх значення.

Практичне заняття № 9

Тема: Форми перебігу інфекційних хвороб риб

Мета заняття: вивчити і опрацювати принцип виникнення інфекційних хвороб риб на прикладах із музейних експонатів

Матеріали та обладнання: матеріали навчально-експозиційної лабораторії, жива риба із підозрою на аеромоноз

Завдання:

1. Теоретично опрацювати основні форми прояву і перебігу захворювань; за експонатами або живою ураженою рибою описати форму зараження.

Особливості прояву та перебігу захворювань залежать від їх етіології, сприйнятливості риби і наявності певних умов.

Залежно від тривалості та характеру прояву клінічних ознак інфекційні хвороби риб можуть мати такі форми перебігу*: гостру, підгостру, хронічну, стерту, латентну* та *стан мікробоносійства*.

Гостра форма характеризується швидким перебігом хвороби і продовжується від декількох діб до двох тижнів. У складних випадках спостерігається *надгостра форма* перебігу хвороби без виявлених клінічних ознак, яка закінчується несподіваною загибеллю риби (як результат швидкого розвитку септичного процесу).

Підгостра форма інфекційного захворювання більш подовжена – від двох до шести тижнів з типовими для цього захворювання клінічними ознаками.

Хронічна форма інфекційної хвороби у риб може продовжуватися протягом декількох місяців з нечітко виявленими клінічними ознаками.

Стерта форма характеризується відсутністю окремих або багатьох клінічних ознак, притаманних цьому захворюванню.

Латентна – безсимптомна форма інфекції, яка в разі погіршення зовнішніх умов може прийняти типову форму.

Носійство – наявність збудника в організмі, що не супроводжується захворюванням.

Запитання для самоконтролю:

1. Що таке інфекція, способи її передачі..
2. Вертикальні та горизонтальні інфекції, форми їх передачі.
3. Яка різниця між гострою та над гострою формою інфекції.
4. У чому полягає бактерієносійство і у якій формі воно виявляється?

Практичне заняття № 10

Тема: Умови виникнення епізоотії та форми прояву епізоотичного процесу

Мета заняття: розглянути на конкретних прикладах (єрсеніозу та вірусної геморагічної септицемії) причини поширення епізоотій у рибних господарствах за природних та штучних типів водопостачання.

Матеріали та обладнання: інтернет ресурс, відеотека кафедри.

Завдання:

1. Опрацювати теоретичний матеріал, замалювати і окреслити принцип поширення епізоотій;
2. На прикладі кількох інфекційних хвороб розписати схему поширення епізоотії, включаючи різні види риб.

Епізоотичний процес – це неперервний ланцюг послідовного зараження і захворювання масової кількості тварин інфекційною хворобою на певній території у певний проміжок часу. Це складний безперервний

процес виникнення і поширення заразних хвороб, пов'язаний з передаванням їх збудників від заражених тварин до здорових, але сприйнятливих.

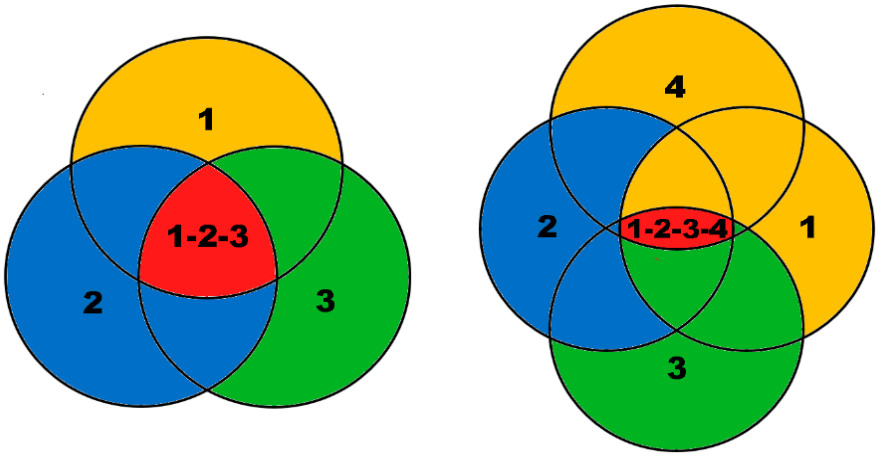
Прояв епізоотичного процесу залежить від патогенних властивостей збудника та інтенсивностінегативної дії природних і антропогенних факторів.

За ступенем інтенсивності та поширення розрізняють декілька форм прояву епізоотичного процесу: спорадичні захворювання (поодинокі випадки), ензоотія, епізоотія та панзоотія. Зустрічаються заразні хвороби риб переважно у формі епізоотій або ензоотій, деякі – спорадично, а у вигляді панзоотій – досить рідко.

Спорадичні захворювання – це поодинокі або малочисельні випадки прояву заразної хвороби, що не пов'язані між собою спільним джерелом збудника.

Ензоотія – це така форма прояву епізоотичного процесу, за якої інфекція (чи інвазія) уражує порівняно невелику кількість риб у окремих водоймах, що мають спільне джерело збудника хвороби. Вона більш характерна для окремої місцевості, зони і може виявлятися у вигляді спорадичних спалахів або переростати в епізоотію.

Епізоотія – форма прояву епізоотичного процесу, яка має виражену тенденцію до широкого розповсюдження, уражує значну кількість риб у водоймах на великій території, що розташовані в басейні однієї чи декількох річок, рибоводні господарства тощо. Прикладом епізоотії може бути спалахи аеромонозу, весняної віремії коропа, інших інфекційних хвороб, пов'язаних між собою єдиними шляхами передавання збудника та його швидким розповсюдженням. У первинних осередках аеромоноз (краснуха) коропових риб частіше виявляється у формі епізоотії, а за переходу в хронічну стадію та в стаціонарно неблагополучних господарствах – у формі ензоотій або епізоотичних спалахів.



А Б

Рис. 16. Взаємодія чинників у разі виникнення епізоотії:
А – у разі патогенного збудника; Б – у разі дії стрес-чинника; 1 – риба;
2 – середовище; 3 – збудник; 4 – стрес-фактор; 1-2-3 та 1-2-3-4 – хвороба

Панзоотія – найвища ступінь інтенсивності епізоотичного процесу, за якої хвороба поширюється у водоймах декількох регіонів, держав чи материків.

Запитання для самоконтролю:

1. Дати характеристику епізоотичному процесу.
2. У чому полягає відмінність ензоотії та епізоотії.
3. Особливості виникнення панзоотії.
4. Що на Вашу думку слугує стес фактором для виникнення інфекції?
5. У чому небезпека середовища при виникненні інфекційного захворювання.

Практичне заняття № 11

Тема: Вплив стресу на організм риб

Мета заняття: визначити основні стрес-фактори на гідробіонти за різних умов вирощування та у природних водоймах

Матеріали та обладнання: гідробіонти басейново-аквaрвального комплексу кафедри.

Завдання:

1. Змоделювати в експериментальних умовах вплив підвищення температури на рибки гуппі, вплив дезінфікуючих препаратів під час обробки експериментальних акваріумів.

Спалахи інфекційних захворювань та ускладнення епізоотичної ситуації провокує стрес, що викликається дією несприятливих чинників на організм риби.

Стрес – це стан, що виникає за впливу певного чинника, дія якого перевищує здатність організму адаптуватися до нього, внаслідок чого порушується нормальне функціонування, знижується загальна резистентність організму до потенційних патогенів.

Стрес-чинники, що негативно впливають на організм риби, умовно можна поділити на такі групи:

- *абіотичні чинники зовнішнього середовища* (різкі зміни температури води, невідповідність хімічного складу, pH, високе органічне навантаження водного середовища, коливання кисню, наявність аміаку, сірководню, сублетальних концентрацій важких металів, пестицидів, токсикантів, їх хронічна дія тощо);
- *фактори внутрішнього середовища* (больові відчуття, зміни констант внутрішнього середовища, інфекційні та інвазійні інтоксикації);
- *внутрішньопопуляційні та міжвидові зв'язки;*
- *антропогенні фактори* (рибоводні маніпуляції, транспортування риби, ветеринарно-санітарні заходи, високі щільності посадки тощо).

Відповідно до класичних поглядів Г. Сельє стрес має три стадії:

- *Стадія тривоги* характеризується різким збільшенням симпатичного впливу на вегетативні та соматичні реакції організму;
- *Стадія опірності* чи *резистентності*, коли організм намагається пристосуватися (адаптуватися) до дії стрес-чинників. Ця стадія характеризується стійким станом гомеостазу та реакцій поведінки;
- *Стадія виснаження*, коли через надмірну і тривалу дію стрес-чинників організм не може пристосуватися до їх впливу.

Рис. 17. Стрес-чинники, що негативно впливають на організм риби, стадії стресу

Різні стресуючі чинники як зовнішні, так і внутрішні, діючи окремо чи разом впливають через гіпофізарно-інтерреналову систему, сприяючи підвищенню рівня кортикостероїдів плазми. Це призводить до підсилення білкового катаболізму, що регулюється кортикостероїдами і може призвести до дефіциту білка, що в свою чергу сприяє атрофії скелетних м'язів, послабленню синтезу колагену, сповільненню процесів утворення антитіл та ослаблення реакції запалення. Недостатня кількість колагену негативно впливає на процеси регенерації тканин, загоювання виразок. У риб за довготривалої дії стресу спостерігається надлишкове продукування кортизолу, що призводить до негативних наслідків та переходу стадії резистентності в стадію виснаження, оскільки білки білих клітин крові та лімфоїдних структур використовуються в процесі глюконеогенезу (синтез глюкози з попередників – лактат, піруват, гліцерин або вуглецевий скелет амінокислот за вичерпування резервного полісахариду глікогену, у вигляді якого глюкоза може депонуватися в тканинах за метаболізму вуглеводів). Це в свою чергу призводить до різкого зниження захисних функцій організму та розвитку вторинних патологій.

Таким чином під дією стресу в організмі розвиваються різні неспецифічні фізіологічні реакції, що утворюють загальний адаптаційний синдром. За стрес-відповіді відбувається «конкуренція» двох систем, що протидіють одна одній: системи, яка мобілізує енергетичні ресурси організму для збереження життя за рахунок імунної та іншої систем і системи, що обмежує глибину стрес-відповіді.

При цьому може бути два результати:

- організм адаптується (якщо дія стрес-чинника була помірна, обмежена у часі чи зміна середовища відбувалася поступово);
- стрес може стати причиною фізіологічного розладу, загибелі або інфекційного захворювання риби (коли його дія перевищує адаптаційні можливості організму і корисно пристосовного ефекту не досягнуто).

На баланс результатів взаємодії цих систем суттєво впливають сила та подовженість стресу. Встановлено, що короткочасна дія стресу навіть має позитивний вплив на організм.

Стадія тривоги особливо яскраво проявляється у зграйних риб, для яких характерна згуртованість та настороженість щодо дії будь-якого зовнішнього подразника (світла, звуку, появі стороннього предмета). На стадії тривоги у риб частота руху зябрових кришок збільшується вдвічі, що свідчить про активізацію біохімічних процесів, підвищення постачання кисню організму.

В експерименті за значної зміни pH середовища початок стадії виснаження у зграйних риб характеризується втратою «згуртованості» зграї, при цьому риба періодично підіймалася до поверхні, захоплювала повітря, переверталася на бік, плавала колами. Дихання було частим і неритмічним. По досягненні pH 12,0 частина риби вичерпувала свої адаптаційні можливості та гинула. У разі тривалого перебування у воді з pH більшим ніж 30,0 од. у риб спостерігали органічні порушення – зміни слизової ока, ураження шкіри, грудних плавців із наступним некрозом тканин.

Складніше визначати межу стадії адаптації. Умовно вона була зафіксована на рівні pH 8,5-10,0 одиниць. У цьому діапазоні зграя заспокоювалася, риби намагалися змінити своє ієрархічне положення на вище, відновлювалися кормові рефлекси. Все це відбувалося на фоні нормалізації частоти дихання. Безумовно, об’єктивніше можна оцінювати наслідки дії стресу за комплексом клінічних та біохімічних показників, але під час роботи з рибою це досить складно з технічних причин. Встановлено, що після впливу стрес-чинника, відновлення гематологічних показників риб відбувається поступово. Так, у коропа показники червоної крові та чисельність тромбоцитів нормалізувалися через 2-4 доби, кількість лейкоцитів – тільки через 14-20 діб.

За стресу в ослабленому організмі риб на фоні судинних та імунних порушень можуть спостерігатися крововиливи та виразки на поверхневих покривах, зябрах, плавцях, шлунково-кишковому тракті, інфекційні та інвазійні захворювання.

Несприятливі температурний та гідрохімічний режими, підвищений вміст токсичних речовин у воді є вагомими стресуючими чинниками, що в першу чергу призводять до різних патологій зябрового апарату, органів гемопоезу, зниження загальної резистентності організму риб. При цьому створюються сприятливі умови для активізації умовно патогенної мікрофлори та виникнення інфекцій, які викликаються аеромонадами, псевдомонадами, ентеробактеріями чи іншими збудниками, що найчастіше спостерігається за значної щільності вирощування риби в аквакультурі. Стрес-чинники можуть провокувати гострий спалах весняної віремії, аеромонозу коропа, міксобактеріози, фурункульоз, бактеріальну геморагічну септицемію, вібріоз лососевих; мікози (сапролегніоз); ектопаразитози (іхтіободоз, триходиноз, хілодонельоз, гіродактильоз). Значне органічне навантаження водойм сприяє загостренню патології незаразної природи – бранхіонекрозу.

Негативна дія стресу особливо відчутна за інтенсивної форми ведення аквакультури, в рибних господарствах індустріального типу за високої щільності посадки риби при вирощуванні. Без урахування дії стресуючих факторів та їх усунення неможливо досягти сприятливої протиепізоотичної ситуації. Профілактика стресу у риби при вирощуванні передбачає оптимізацію гідрохімічного режиму, використання для годівлі повноцінного збалансованого корму, дотримання зоогігієнічних умов та щільності посадки, мінімізацію негативного впливу під час рибоводних маніпуляцій, застосування спеціальних антистресуючих препаратів.

Запитання для самоконтролю:

1. Що таке стрес?.
2. Що таке стес-чинники, як вони впливають на процесі адаптації.
3. Наявність токсичних речовин, на які реакцію гідро біонтів впливає впершу чергу.
4. Назвіть основні засади профілактики стесових чинників.

Практичне заняття № 12

Тема: Методи прижиттєвої діагностики хвороб риб

Мета заняття: практично навчитися готувати розчини для копро логічних аналізів, визначати шляхом осадження личинки диплостом.

Матеріали та обладнання: умови навчально-експозиційної та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень кафедри

Завдання:

1. Навчитися робити копрологічний аналіз, товстого скла;
2. Навчитися виявляти метацеркарії диплостомума

При транспортуванні риб у ставові господарства, риборозплідники, водосховища, а також при транспортуванні риб з метою акліматизації, важливо виявити чи заражена риба тими чи іншими збудниками хвороб

прижиттєво, не розтинаючи її. Безпосередньо дослідити методом зскребка можна лише зовнішніх паразитів, які локалізуються на поверхні шкіри риби і тільки частини зябер (зскребок зябер викликає кровотечу).

Про наявність паразитів в шлунку, кишечнику, протоках печінки і жовчному міхурі – можна дізнатися шляхом копрологічного аналізу. Прижиттєву діагностику зараженості очей проводять шляхом офтальмоскопії. Кров'яних паразитів виявляють шляхом дослідження мазків крові. У ряді випадків прижиттєва діагностика ендопаразитів може бути вивчена за лейкоцитарною формулою крові риб.

Копроскопічний аналіз

Метод 1

Готують перенасичений розчин кухонної солі, для цього в посудину з кип'яченою водою додають таку кількість солі, поки не одержується нерозчинний осад.

Одержаний розчин фільтрують через лійку із шаром марлі або вати в особливу посудину (пляшку). Відфільтрований розчин охолоджують, наявність випавших в осад кришталиків солі буде вказувати, що розчин кухонної солі насичений. Потім у склянці розводять насиченим розчином солі 1–2 см екскрементів.

Екскременти у риб для копроскопічного аналізу беруть таким чином: рибу потрібно взяти в руки і обома пальцями злегка з двох сторін притиснути на черевці біля ануса. При цьому легко витискається циліндричного бурого кольору екскремент. Для аналізу беруть екскремент довжиною від 2 до 3 см.

Насичений розчин солі потрібно додавати до екскрементів поступово, весь час добре перемішувати. Коли склянка наповнюється до верху, відразу знімають паличкою всі сплинувші крупні частинки, а склянку із сумішшю залишають стояти протягом 0,5 або 1 години. Яйця різних гельмінтів, питома маса яких менша питомої маси перенасиченого розчину кухонної солі, спливають на поверхню рідини.

Для дослідження беруть краплю рідини з поверхні склянки доторканням до неї плазом дротяної петлі діаметром від 8 до 10 мм. Рідину з яйцями гельмінтів які містяться в ній, витрушують на предметне скло, накривають покривним склом і досліджують під мікроскопом (починаючи дослідження з найменших збільшень).

Після кожного дослідження дротяну петлю необхідно пропалювати над полум'ям, щоб не заносити яєць гельмінтів в наступні порції. Недоліком цього методу є те, що яйця не всіх видів гельмінтів однаково легко виявляються. Так, наприклад, часто вислизають яйця трематод, питома маса яких більша щільності розчину і тому вони не завжди спливають на поверхню рідини.

Метод 2

Великий шматок фекалій (довжиною 3 см) змішується скляною паличкою або дерев'яною в центрифужній пробірці з водою до одержання

рідкої консистенції і центрифугується. Після центрифугування поверхню рідини зливають, а до осаду додають гліцерин, розбавлений на половину з насиченим розчином кухонної солі. Ця суміш перемішується паличкою і знову центрифугується. Потім для досліджень беруть краплю рідини з поверхні пробірки і досліджують під мікроскопом. Для одержання кращих результатів потрібно досліджувати декілька крапель рідини. При відсутності гліцерину друге центрифугування можна провести з одним насиченим розчином солі.

Метод 3

Цей метод застосовується головним чином, для діагностики хвороб, які викликаються трематодами. Частка екскрементів довжиною 2–3 см поміщається в пробірку із сумішшю рівних частин ефіру і міцної HCl. У цій суміші фекальні маси ретельно перемішуються скляною паличкою. Ефір розчиняє нейтральні жири і вільні жирні кислоти, а HCl розчиняє білкові залишки – муцин, фосфат та солі кальцію.

Одержаний розчин пропускається через капронове сито в центрифужну пробірку і центрифугується. Після центрифугування в пробірці одержується три шари: у верхньому шарі ефір, з розчиненими в ньому жирами, в середньому – HCl із зваженими і розчиненими в ній речовинами, нижній шар складається із дрібних неперетравлених залишків їжі і яєць паразитичних гельмінтів. Піпеткою беруть із дна пробірки невелику кількість осаду і наносять на предметне скло, накривають покривним склом і досліджують під мікроскопом.

Всі описані методи скеровані головним чином на виявлення яєць гельмінтів, тобто є методом гельмінтоовоскопічного дослідження. У деяких випадках маємо на увазі виявлення личинок, котрі вже вилупились із яєць – такі методи відносяться до так званих гельмінтоларвоскопічних.

Метод 4

Під час роботи з цим методом застосовують лійку з надітою на її кінець гумовою трубкою довжиною 15–20 см із зажимом. В лійці повинно бути металеве сито з діаметром отворів 0,25–0,5 мм, яке вкладається в лійку на середині її висоти: при відсутності металевої сітки можна замінити її марлею. Лійку встановлюють на спеціальному штативі.

У лійку наливають теплу воду, підігріту до 38–39°С, порцію фекалій довжиною 2–3 см поміщають на сито, після чого опускають у лійку з водою. Через 1–2 год по гумовій трубці осад відціджується в центрифужну пробірку, центрифугується; верхній шар води зливається, а осад переноситься (чистою піпеткою) на предметне скло і досліджується під мікроскопом при малому збільшенні.

Проведення робіт

1. **Копрологічний аналіз**

Об'єкти: екскременти риб, носіїв гельмінтів, мазки.

Обладнання: перенасичений розчин кухонної солі (заздалегідь приготовлений); склянки або скляні циліндри; скляні палички; дротяні петлі; предметні скельця; покривні скельця; імерсійне масло; мікроскопи.

В склянку або в скляний циліндр кладуть 3 см екскрементів риби і ретельно розтирають їх скляною паличкою з невеликою кількістю розчину (екскременти риб можуть бути заздалегідь зібрані і відповідно зафіксовані або заморожені). Потім доливають розчину майже до верху склянки (залишають 1 см від верхнього краю). Відстоюють 40 хв, не більше 60 хв, доторкаються до поверхні рідини в посудині дротяною петлею. Утворюється плівка поверхневого натягу. Струшують плівку на предметне скло. Беруть з петлі. Покривають покривним склом і уважно проглядають під мікроскопом. За формою яєць ставлять діагноз.

2. Метод товстого мазка з целофановим покривним склом

Для виявлення яєць гельмінтів у фекаліях за методом Като.

100 мг фекалій без додавання води або іншої рідини наноситься на предметне скло, покривається замість покривного скла спеціально обробленою стрічкою целофану і притискається на предметному склі гумовим корком таким чином, щоб фекалії не видавлювалися з під целофану (рис. 18).

Целофанові стрічки розміром 8,2 см^2 готуються із гідрофільного целофану (товщиною 22 мк) і попередньо обробляються шляхом занурення їх в розчин такого складу: 6 мл 3%-го водного розчину малахітової зелені, 500 мл гліцерину, 500 мл 6%-го розчину фенолу.

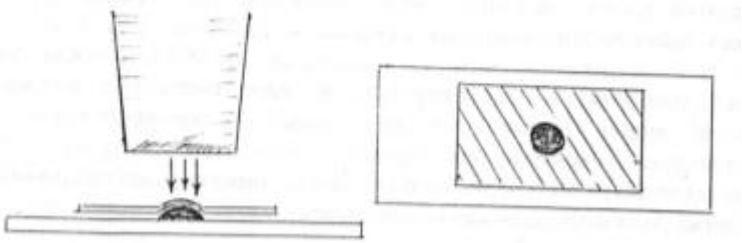


Рис. 18. Виготовлення мазка за методом Като

3. Методика виявлення яєць гельмінтів за А.А. Красильниковим

Фекалії для дослідження збирають безпосередньо в консервант – розчин детергентів. Ці розчини, добре консервують яйця більшості гельмінтів. Метод грунтується на принципі осадження яєць.

Фекалії змішують у центрифужній пробірці з 1% розчином детергенту «Лотос» або 1,5%-го розчину «Екстра» у співвідношенні 1:10 до утворення гомогенної суспензії і відстоюють протягом 30 хв. Вміст пробірки ретельно перемішують 30 сек і центрифугують 5 хв при 1500 обертах/хв. Із осаду готують 2 препарати за методу нативного мазка.

Слід пам’ятати, що в калі можуть бути: спори і насіння рослин, яйця рачків, коловерток, статобласти мшанок і т.п. Потрібно відрізнити їх від яєць паразитів.

Офтальмоскопія

Проводиться для виявлення в очах риби метацеркарій *Diplostomum spathaceum*.

Запитання для самоконтролю:

1. Розкажіть принцип виконання копро логічного аналізу і його мету.
2. Загальні правила роботи методу товстого мазка з целофановим покривним склом.
3. У чому полягає методика виявлення яєць гельмінтів за А.А. Красильниковим
4. У чому заключається специфіка офтальмоскопії?
5. Обладнання для мікроскопічного дослідження препаратів.

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2

СПЕЦІАЛЬНА ІХТІОПАТОЛОГІЯ (ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ РИБ)

Практичне заняття № 13

Тема: Вірусологічні дослідження

Мета заняття: опрацювати принцип відбору іхтіопатологічного матеріалу за підозри на віусне захворювання

Матеріали та обладнання: інтернет ресурс, відеотека кафедри іхтіології

Завдання:

1. Ознайомитися із принципом етіології вірусних захворювань риб.

Діагностика вірусних інфекцій досить складна і включає взяття та транспортування патологічного матеріалу від хворих риб, його дослідження фахівцями в умовах вірусологічної лабораторії. Матеріал для вірусологічних досліджень відбирають із органів і тканин, де концентрується вірус, а при маловивчених хвороб – із найбільш уражених органів. Основними методами, які використовують у вірусології під час діагностування інфекційних хвороб, є культивування та ідентифікація вірусів.

Віруси виділяють, переважно, на культурах клітин (перещеплювані культури клітинних ліній, які здатні необмежено довго розмножуватись *in vitro* у спеціальних поживних середовищах), підбираючи у кожному конкретному випадку культури, чутливі до вірусу, в яких він здатний розмножуватися. Для отримання первинної культури клітин риб придатні різні органи і тканини: недозрілі гонади самок, нирки, серце, шкіра, плавці і т. інше. Проте, найчастіше їх готують з клітин гонад самок, оскільки вони володіють значною потенцією росту *in vitro* (поза організмом). Гонади мають бути II або II–III стадій зрілості, коли вони не містять ікринок, помітних неозброєним оком, оскільки їх уміст негативно впливає на ріст клітин.

В іхтіопатології найчастіше використовують такі клітинні лінії:

- EPC (епідермальні новоутворення хворого віспою коропа);
- ICO (яєчник нестатевозрілого коропа);
- CTF (хвостовий плавник коропа);
- BF–2 (хвостове стебло *Lepomis macrochirus*);
- CHSE–214 (ембріон чавичі);
- RTG –2 (гонади райдужної форелі).

В основі методу отримання *первинно-трипсинізованої* культури клітин лежить обробка шматочків тканини протеолітичними ферментами (трипсин та ін.), що призводить до руйнування міжклітинних протоплазматичних містків і розшарування клітинної маси. У відповідному живильному середовищі готують суспензію клітин та вирощують (інкубують) їх у матрацах, пробірках чи флаконах у термостаті за відповідної температури (під час іхтіопатологічних досліджень – за температури 24–30°С). Клітини прикріплюються до скла, діляться, але в разі контакту клітин одна з одною їхній поділ припиняється внаслідок взаємного пригнічення (контактна інгібіція). При цьому на поверхні скла за 3–5 діб виростає моношар клітин, який називають *одношаровою (моношаровою) культурою* клітин. Для подовження терміну життєздатності культури клітин, періодично здійснюють заміну середовища з метаболітами на свіже того самого складу, що використовували і для посіву клітин.

Культури клітин отримують в умовах суворої асептики. Для успішного їх отримання, проведення вірусологічних досліджень важливе значення має підготовка води, яка використовується для приготування середовищ, сольових і дезагрегуючих розчинів, миття посуду. Вода не повинна містити токсичних речовин, іонів важких металів, пірогенних речовин та ін.

Важливе значення для отримання культури клітин має чистота лабораторного посуду і гумових предметів. Залишки білка, неповне видалення слідів лугу і кислот під час миття, недостатня стерилізація можуть призвести до загибелі культур.

Перевивна (перещеплювана) культура клітин (постійна клітинна лінія) – це клітини, здатні до необмеженої кількості пасажів *in vitro.*

Отримують їх із первинних культур шляхом багаторазового пересіву на живильні середовища.

Для підтримання росту перещеплюваних культур потрібно проводити їх систематичні пересіви, які складаються з трьох основних етапів: вибір матраца, пробірки чи флакона зі задовільним станом культури клітин; диспергування клітинного моношару та приготування суспензії клітин; їх посів у нові матраци, пробірки чи флакони з поживним середовищем.

Повноцінна культура може бути отримана лише від генерації життєздатних клітин. Тому, мікроскопія для оцінювання якості моношару, має вирішальне значення під час вибору культури для пересіву. За задовільного стану культури клітини чітко розмежовані і мають типову морфологічну характеристику для цієї лінії. Наявність великої кількості заокруглених клітин, поява клітин з вакуолями, включеннями та іншими

цитопатологічними ознаками свідчать про непридатність такої генерації культури для пересіву. Можлива наявність невеликої кількості округлих клітин, які легко змиваються з поверхні моношару і зовсім не впливають на його якість.

Первинні та *перещеплювані культури клітин* використовують для виділення і накопичення вірусу як індикаторної системи під час вивчення різних властивостей вірусу та особливостей його взаємодії з клітиною, а також для вирішення практичних завдань, пов'язаних з діагностикою і виробництвом препаратів для профілактики вірусних інфекцій.

Перещеплювані культури клітин мають переваги перед первинними, оскільки їх простіше і швидше отримувати, менші затрати праці, їх можна заздалегідь перевірити на контамінацію сторонніми мікроорганізмами (мікоплазмами, вірусами). Крім того, за їх використання забезпечуються більш стандартні умови для культивування вірусу.

Виділення вірусу на чутливих до нього культурах клітин, в яких він здатен розмножуватися – одна з основних вимог доказу вірусної природи захворювання. Розмножуючись та порушуючи їх метаболізм, віруси викликають цитопатичні зміни, видимі при мікроскопії заражених культур клітин. Для кожного виду вірусу існує своя оптимальна температура розмноження.

Культури клітин використовують не тільки для виділення і накопичення вірусів, а як і індикаторну систему під час вивчення різних властивостей вірусу, особливостей його взаємодії з клітиною, а також для вирішення практичних завдань, пов'язаних з діагностикою і виробництвом препаратів для профілактики вірусних інфекцій.

Для ідентифікації вірусів використовують декілька взаємодоповнюючих методів: серологічні реакції; електронну мікроскопію, вивчення фізико-хімічних властивостей вірусу; виявлення характерних морфологічних змін у заражених клітинах або характерних симптомів у заражених риб.

Для доказу вірусної етіології захворювань (як і бактеріальної) слід виділити інфекційний збудник з хворого організму, здійснити пасажи виділеного агента на культурі клітин або чутливих риб (поживних середовищах), дослідити природу виділеного агента, відтворити захворювання у здорових особин того самого виду та повторно виділити збудник від експериментально заражених об'єктів досліджень.

Запитання для самоконтролю:

1. Особливості діагностики вірусних захворювань.
2. Первинні та перещеплювані культури клітин.
3. Принцип виділення та розмноження вірусів.

Практичне заняття № 14

Тема: Вірусні хвороби риб

Мета заняття:теоретично ознайомитися із віспою коропа.

Матеріали та обладнання: інтернет джерела, відеотека кафедри, друковані матеріали

Завдання:

1. Опрацювати етіологію та патогенез віспи коропа, методику діагностування та санітарні вимоги до риби;
2. Замалювати коропа пораженого віспяними висипами.

Віспа коропа. ***Етіологія та епізоотологічні дані.*** Віспа (папільозна епітеліома) – заразне захворювання коропових риб вірусної природи, збудника якого віднесено до герпесвірусів. Це ДНК-геномний вірус округлої форми, діаметром 110-115 нм. Наявність вірусу у риб, хворих на віспу, було підтверджено електронною мікроскопією під час виявлення елементарних вірусних тілець в ядрі епітеліальних клітин епідермісу шкіри.

Віспою хворіють переважно короп, сазан, їх гібриди, окремі випадки захворювання спостерігали у ляща, плітки, карася, судака та інших видів риб. Інкубаційний період довготривалий, інколи, триває до року, тому хворобу реєструють, переважно, у дворічок та риб старших вікових груп. Ензоотії віспи проявляються у літньо-осінній період, частіше у господарствах з низьким рівнем культури виробництва і у водоймах, що знаходяться в антисанітарному стані за нестачі кальцію у воді та високої щільності посадки риби на вирощування. Зустрічається віспа переважно у вигляді спорадичних випадків.

Клінічні прояви та патогенез. Характерна ознака віспи – поява на поверхні тіла і плавцях хворих риб доброякісних пухлин (епітеліом), що формуються за рахунок епідермальної гіперплазії і розростання недиференційованих епітеліальних клітин епідермісу шкіри. Пухлинні розростання чітко обмежені, мають щільну парафіноподібну консистенцію, локальні, а за тяжкої форми хвороби, розростаючись, займають великі ділянки чи поширюються на всьому тілі.

Захворювання тривале, має хронічний перебіг, не викликає масової загибелі, але в разі значного ураження риби відмовляються від корму, відстають у рості, інколи спостерігається розм’якшення та деформація скелета, поодинокі особини гинуть.

Діагностика. Діагностують хворобу за наявності характерних клінічних ознак з урахуванням епізоотологічних даних.

Заходи боротьби та профілактика. Лікування не розроблене. Слід проводити ветеринарно-санітарні і рибоводно-меліоративні заходи, періодичне літування ставів. У разі недостатньої кількості у воді та грунті кальцію рекомендується систематично вапнувати водойми, а в корм рибі додавати крейду (до 5-10% добового раціону).

Селекційно-племінна робота, виключає інбридинг і дозволяє вирощувати стійких до віспи нащадків. У неблагополучних господарствах вводять карантинні обмеження, весною і восени вибраковують хворих риб, особливо у стаді плідників.

Санітарне оцінювання риби. Хвору рибу направляють на технічну утилізацію, або в провареному вигляді використовують для згодовування тваринам. Умовно здорову рибу реалізують у торговельній мережі без обмежень.

Запитання для самоконтролю:

1. Етіологія та патогенез віспи коропа, особливості поширення.
2. Характеристика клінічних ознак віспи, особливості диференціації.
3. Заходи боротьби та профілактики при вірусних захворюваннях, при віспі в тому числі.

Практичне заняття № 15

Тема: Бактеріологічні дослідження в іхтіопатології

Мета заняття: опрацювати принцип бактеріологічного дослідження матеріалу відібраного від гідробіонтів

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Навчитися стерильно відбирати шматочки органів для бактеріологічних досліджень, проводити бак посіви.

Зразки патологічного матеріалу для бактеріологічних досліджень відбирають із дотриманням правил асептики в стерильний посуд чи поживні середовища. Для дослідження беруть лише живу рибу, оскільки у снулої проникність стінок шлунково-кишкового тракту та кровоносних судин збільшується і сапрофітна мікрофлора швидко контамінує усі органи і тканини, ускладнюючи виділення збудника захворювання.

Шматочки органів для бактеріологічних і вірусологічних досліджень відібрані стерильно, можна консервувати стерильним 4–5% розчином гліцерину у фізіологічному розчині чи воді. Відібрані для досліджень зразки із супровідним документом доставляють у лабораторію щонайшвидше (влітку не пізніше ніж через 2 години після відбору). Якщо доставка вимагає більш тривалого часу, їх транспортують у термосі з льодом. За потреби посіви патологічного матеріалу на тверді поживні середовища МПА, TSA (м’ясо-пептонний агар, триптозо-соєвий агар) для бактеріологічних досліджень здійснюють безпосередньо у господарстві.

Результати бактеріологічних та вірусологічних досліджень залежать від правильного відбору патологічного матеріалу та своєчасної його доставки в

лабораторію. Часто захворювання вірусної етіології супроводжується наявністю бактеріальної інфекції, що ускладнює їх діагностику.

Бактеріологічні посіви проводять, у першу чергу, з уражених ділянок шкіри, м'язів (виразки, абсцеси), зябрової тканини, крові та асцитної рідини, а після ростину порожнини – з внутрішніх органів. Патологічний матеріал з паренхіматозних органів відбирають стерильно пастерівськими піпетками або бактеріологічною петлею. Посіви з кишкового тракту роблять в останню чергу.

Виразки перед відбором патологічного матеріалу промивають стерильним фізіологічним розчином; вміст абсцесів, фурункулів, асцитної рідини набирають пастерівською піпеткою після асептичної обробки поверхневих тканин.

Кров на посіви беруть із серця або з хвостової артерії. Для посіву потрібно 2–3 краплини крові, при цьому першу краплину, зазвичай, вилучають.

Для асептичного розтину рибу знерухомлюють. Тулуб з лівого боку звільняють від слизу, вилучають грудний і черевний плавці, дезінфікують спиртом або фламбують спиртовим тампоном. Стінку черевця відсікають стерильними ножицями півмісяцевим розрізом від ануса до зяберної кришки.

Первинні бактеріологічні посіви здійснюють на тверді поживні середовища – м'ясо-пептонний агар (МПА), триптозо-соєвий агар (TSA), інколи на м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), а за потреби – на елективні та диференціально-діагностичні середовища (Гісса, Ендо, Левіна та ін.). Одночасно або після закінчення посівів готують мазки крові, ексудату, відбитки із некротичних ділянок, виразок, паренхіматозних органів. Їх фарбують за Романовським-Гімзою або за Грамом загальноприйнятими методами.

Основні етапи проведення мікробіологічних досліджень:

- посіви біологічного матеріалу на поживні середовища;
- виділення чистих культур;
- дослідження факторів патогенності, встановлення патогенності у біопробі;
- вивчення морфологічних, культуральних та біохімічних властивостей;
- визначення систематичного положення виділених бактерій (ідентифікація);
- визначення чутливості до препаратів.

Первинні посіви біологічного матеріалу на твердих поживних середовищах інкубують у термостаті за температури 26°С протягом 24 годин. Для зменшення вологості поверхні агару, чашки готують заздалегідь, підсушуючи їх у термостаті. Для кращої пігментації колоній, що виросли, чашки протягом декількох днів витримують поза термостатом під впливом сонячних променів.

Чисті культури мікроорганізмів одержують шляхом розсіву виділених бактеріальних культур на твердих поживних середовищах МПА, TSA,

отримуючи ріст ізольованих колоній. Вивчають морфологічні, тинктуральні та біохімічні властивості виділених штамів, досліджують на наявність дезоксирибонуклеази – фактора патогенності (ДНК–азна активність), у біопробі з'ясовують їх етіологічну роль.

Визначення ДНК–азної активності проводять шляхом посіву культур на ДНК-азо агар. Після 24-48 год культивування у термостаті за температури 26°С чашки Петрі з культурами заливають 0,1 н розчином соляної кислоти. Позитивна реакція (довкола колоній бактерій, які мають ДНК-азну активність, утворюється прозора зона деполімеризації дезоксирибонуклеїнової кислоти) настає через 3-5 хв.

Реакція аглютинації бактерій. У крові як клінічно здорових, так і хворих риб можна виявити природні та набуті антитіла, зокрема специфічні антитіла (*аглютиніни)*, які накопичуються за інфекційних захворювань та щеплень і викликають злипання бактеріальних клітин, навантажених відповідними антигенами (*аглютиногенами*). При цьому спостерігається утворення дрібнозернистого осаду за рахунок злипання клітин бактерій (О–аглютинація, що зумовлена наявністю О–антигена на поверхні клітин бактерій) або великих пластівців внаслідок з'єднання джгутиків за рахунок наявності джгутикового Н–антигена. Реакцію аглютинації використовують для ідентифікації збудників інфекційних хвороб. Для її проведення використовують діагностикуми, приготовані з культури відповідного мікроорганізму. Реакція аглютинації бактерій поширена у діагностиці бактеріальних хвороб риб.

Запитання для самоконтролю:

1. Як проходить консервація матеріалу відібраного для бактеріального дослідження.
2. Принцип відбору бак матеріалу з уражених ділянок.
3. Охарактеризуйте основні етапи проведення мікробіологічних досліджень.
4. Особливості реакції аглютинації бактерій.

Практичне заняття № 16

Тема: Бактеріальні хвороби риб

Мета заняття: опрацювати теоретичний матеріал етіології та патогенезу єерсеніозу лососевих риб.

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Описати захворювання, замалювати основні клінічні ознаки, педставити дефференційну таблицю ієрсеніозу та інших хвороб лососевих.

Ієрсиніоз. ***Етіологія та епізоотологічні дані***. Збудник – *Yersinia ruckeri* – грамнегативна, рухлива паличка, яка викликає захворювання у лососевих (райдужної форелї, палії, кумжі, стальноголового лососося, нерки, горбуші, чавичі, кіжуча), інколи, осетрових (ленського осетра). Має блискавичну, гостру, підгостру та хронічну форми перебігу. Особливо чутлива райдужна форель. Спостерігається в багатьох країнах світу. У молоді (цьоголіток, однорічок) ієрсиніоз має гострий та підгострий перебіг, у товарної риби – хронічний. Загибель риби може сягати 55–65% і залежить від низки чинників, серед яких температура, щільність посадки, імунофізіологічний стан організму. Так, за температури води 15–18°С перебіг ієрсиніозу ускладнюється, а її зниження до 10°С смертність риб зменшується.

Клінічні ознаки і патогенез. Основні клінічні ознаки – потемніння поверхневих покривів, запалення та ерозії у ротовій порожнині, на зябрових кришках, у основі плавців, геморагії на черевці, екзофтальм, анемічність зябер чи почервоніння біля їх основи. У деяких риб спостерігається збільшення черевця, набряки тканин голови, поблизу рота з’являються ерозії, виразки.

Під час розтину спостерігають гіперемію стінки черевної порожнини, плавального міхура, кишечнику (переважно заднього відділу), зміни в паренхіматозних органах (крововиливи в печінці, підшлунковій залозі, на плавальному міхурі, жировій тканині, очеревині, пілоричних придатках, статевих залозах, у м’язах), інколи, некротичні осередки у нирках, заповнення кишкового тракту рідиною.

Загибель хворих риб спостерігається через 5-12 діб і може продовжуватися 3-6 діб. До виникнення захворювання можуть призвести наявність аміаку, продуктів метаболізму риб та дефіцит кисню у воді.

Заходи боротьби та профілактика аналогічні таким, як за інших бактеріальних захворювань і включають регулярне проведення ветеринарно-санітарних заходів, дотримання технології вирощування риби, запобігання завезенню хворих риб у благополучні господарства, антибактеріальну терапію, вакцинацію. Позитивні результати дають обробка ікри йодоформом, згодовування лікувальних препаратів. Ефективні сульфамеразин (2 мг/кг маси риби протягом 5 днів), окситетрациклін (5 мг/кг маси риби протягом 3 днів) та ін.

Запитання для самоконтролю:

1. Дайте характеристику іерсеніозній інфекції.
2. Охарактеризуйте принцип діагностики іерсеніозу та його диференціації.
3. У чому полягають заходи профілактики та лікування хвороби «червоного рота».
4. Які заходи активної профілактики знаєте?

Практичне заняття № 17

Тема: Мікологічні дослідження в іхтіопатології

Мета заняття: опрацювати теоретичний матеріал етіології та патогенезу за мікологічного дослідження гідробіонтів.

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Опрацювати проби патологічного матеріалу, відібрані для мікологічного дослідження.

Проби патологічного матеріалу, відібрані для мікологічного дослідження, переносять у поживні середовища з антибіотиками.

Достатньо надійним методом діагностики більшості мікозів риб (бранхіомікоз, сапролегніоз) є *світлова мікроскопія* патологічного матеріалу. Досліджують нативні препарати із уражених органів при додаванні кількох крапель 5%-го водного розчину гліцерину чи 0,9%-го розчину натрію хлориду або води. Чисті культури грибів виділяють переважно на спеціалізованих середовищах Сабуро, Чапека та інших. Багато грибів росте і на м'ясо-пептонному агарі.

За підозри на *бранхіомікоз* здійснюють мікроскопію мазка з некротичних ділянок зябрової тканини. Шкребки із зябер розміщують на предметному склі, додають кілька крапель води або фізіологічного розчину, накривають покривним скельцем і розглядають під малим та середнім збільшенням мікроскопа. У полі зору видно гіфи гриба із спорами. У гістологічних зрізах вони розміщуються в просвіті судин і зафарбовуються гематоксилін-еозином у темно-ліловий колір. Для виділення збудника бранхіомікозу мікробіологічні посіви здійснюють із некротизованих ділянок зябер.

Для виявлення *сапролегнієвих грибів* під мікроскопом досліджують шкребки із шкіри, зябер, носових ямок риб та ікру. При цьому добре видно гіфи гриба, які закінчуються зооспорангіями. Сапролегнієві гриби добре ростуть на стерилізованому (прокип'яченому) насінні коноплі і льону, яке поміщають на поверхню охолодженого 1,5% агару в стерильні чашки Петрі. Сапролегнія росте за кімнатної температури у вигляді ватоподібних колоній.

За *глибоких мікозів (іхтіофонозу, мікотичного грануломатозу)* досліджують мікроскопічно нативні роздавлені препарати із уражених органів (печінки, нирок, селезінки). Збудників іхтіофонозу та інших глибоких мікозів культивують на МПА з додаванням 1%-ї сироватки ВРХ, а також на глюкозо дріжджовому агарі.

Запитання для самоконтролю:

1. Навести приклади мікологічних досліджень риб.
2. Описати основні принципи профілактики мікозів .

3. Чи на всіх етапах реально провести мікологічні дослідження.

Практичне заняття № 18

Тема: Мікози риб

Мета заняття: опрацювати теоретичний матеріал етіології та патогенезу мікозів риб.

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Описати захворювання, замалювати основні клінічні ознаки, педставити дефференційну таблицю поверхневих та глибоких мікозів.

Глибокий мікоз (мікоз плавального міхура). ***Етіологія та епізоотологічні дані.*** Глибокий мікоз – захворювання молоді форелі віком до року, в окремих випадках дволіток та інших лососевих риб (кети, горбуші, сьомги, нерки, каспійської кумжі, чавичі, кижуча) під час їх вирощування в аквакультурі, яке викликається грибом *Phoma herbarum* з класу целоміцет порядку пікнідіальних.

Клінічні ознаки і патогенез. Конідії збудника потрапляють у плавальний міхур під час заковтування води та повітря личинками, проростають, утворюючи міцелій, який розростаючись, заповнює увесь просвіт плавального міхура, порушуючи його функції. Риба стає малоактивною і тримається у місцях із незначною течією, опускається на дно, зрідка піднімаючись до поверхні та заковтуючи повітря. Проникаючи через стінку плавального міхура збудник уражає нирки, стінки кишечнику, інколи м’язи, спостерігається некроз уражених тканин, скупчення рідини в черевній порожнині, вирячкуватість. Як правило, захворюваність незначна (до 4%).

Заходи боротьби та профілактика. Ефективного лікування не розроблено. Оскільки зараження риби відбувається в період первинного заповнення плавального міхура повітрям, для профілактики хвороби не раніше ніж за 3 доби до першого підняття, личинок потрібно переводити у чисті, ретельно продезінфіковані лотки або стави з чистою водою.

Запитання для самоконтролю:

1. Дайте характеристику та визначення глибоких та поверхневих мікозів.
2. Клінічні ознаки та патогенез мікозів риб.
3. заходи профілактики та лікування мікозів риб в індустріальних умовах.

Практичне заняття № 19

Тема: Лікувально-профілактична обробка ікри під час інкубації

Мета заняття: навчитися робити розрахунок для лікувально-профілактичної обробки ікри під час інкубації

Матеріали та обладнання: розрахункові матеріали

Завдання:

1. Розрахувати необхідну кількість внесення фіолетового К, для проведення обробки 6-ти інкубаційних апаратів Шустера, з проточністю води 3 л/с, час обробки 20 хв.

Лікувально-профілатична обробка ікри під час інкубації

Розрахунок необхідної кількості сухого препарату (фіолетового «К») в мг проводять за формулою:

$$\mathbf{X = VP * 1 / K,}$$

де V – об'єм ємкості, $дм^3$;

Р – робоча концентрація розчину, $мг/дм^3$;

К – концентрація препарату (%), вказана у сертифікаті.

Розрахунок необхідної кількості препарату на весь час обробки проводять за формулою:

$$\mathbf{X = KP_в\ T * 1 / C,}$$

де К – лікувальна (робоча) концентрація розчину, $мг/дм^3$;

$Р_в$ – витрата води в апараті під час обробки, $дм^3/год$;

Т – час обробки, год;

С – концентрація препарату (%) вказана у сертифікаті якості.

З необхідної кількості препарату готують маточний розчин, який виливають у ємність з дозувальним пристроєм. Його витрату розраховують за формулою:

$$\mathbf{P_м = (V_м / T)\ (дм^3/год) = 16{,}7\ (V_м / T)\ (мл/хв),}$$

де $V_м$ – об'єм маточного розчину, $дм^3$;

16,7 – показник перерахунку, $дм^3/год$ (в мл/хв);

Т – час обробки риби, год (хв).

Запитання для самоконтролю:

1. Значення іхтіопатологічних обробок (через воду, середовище).
2. Загальні правила роботи рибовода під час проведення обробок.
3. Значення швидкості протікання води через інкубаційні апарати.
4. У чому заключається специфіка обробки барвниками?

Практичне заняття № 20

Тема: Лікувально-профілактична обробка риби. Визначення ефективності проведених лікувально-профілактичних заходів

Мета заняття: навчитися робити розрахунок для лікувально-профілактичної обробки ікри під час інкубації

Матеріали та обладнання: розрахункові матеріали

Завдання:

1. Визначити економічну ефективність проведених лікувально-профілактичних і оздоровчих заходів.

Обробка риби у ставах

Потрібну кількість барвника (фіолетовий «К», метиленовий синій) в г визначають за формулою:

$$\mathbf{m = VC * 1 / K,}$$

де V – об'єм води в ставу, $м^3$;

С – робоча концентрація барвника, $г/м^3$; С = 0,15 або 0,20;

К – концентрація активнодіючої речовини в сухому барвнику, % (вказана у сертифікаті якості).

Визначення економічної ефективності проведених лікувально-профілактичних і оздоровчих заходів

Вихідні дані:

у господарстві використовували такі препарати як вапно – 5,9 т за ціною 0,41 грн/кг, малахітовий зелений – 520 г за ціною 550 грн/кг, метиленовий синій – 270 г за ціною 430 грн/кг, фіолетовий «К» – 480 г за ціною 440 грн/кг, виловлено продукції 6,5 т, реалізовано продукції 5 т, ціна реалізованої продукції за 1 кг – 65,15 грн., витрати на виробництво 180 000 грн., загальні витрати на оплату праці ветлікаря та рибовода 8400 грн.

Пояснення та розв'язання

Хвороби риб у процесі вирощування товарного коропа мають значний вплив на ефективність роботи підприємства. Для боротьби із захворюваннями риб потрібні значні кошти для профілактичних дій, раціональне використання яких має бути економічно обґрунтованим.

Розрахунок витрачених коштів на лікувально-профілактичні препарати. Розрахунок коштів, витрачених на лікувальні препарати залежить від ціни та кількості використаних препаратів і визначається за формулою (1)

$$\mathbf{С_П = Ц_П * К, (1)}$$

де $С_П$ – вартість використаних препаратів, грн;

$Ц_П$ – вартість препарату, грн/кг;

К – кількість препарату, необхідна для проведення обробки, кг.

Обчислюємо кошти витрачені на ці препарати:

$С_П$ (вапна) = 0,41грн/кг х 5900 кг = 2419грн;

$С_П$ (малахітового зеленого) = 550 грн/кг х 0,52 кг = 286грн;

$С_П$ (метиленового синього) = 430грн/кг х 0,27 кг = 116,10грн;

$С_П$ (фіолетового «К») = 440 грн/кг * 0,48 кг = 211,20 грн.

Загальна сума використаних препаратів становила:

$С_П$ = $С_П$ (вапна) + $С_П$ (малахітового зеленого) + $С_П$ (метиленового синього) + $С_П$ (фіолетового «К») = 2419 грн. + 286 грн + 116,10 грн + 211,20 грн = 3032,30 грн.

За даними розрахунків загальні витрати на лікувально-профілактичні препарати становлять 3032,30 грн.

Визначення витрат на протиепізоотичні заходи. Витрати на протиепізоотичні заходи (організаційні, ветеринарно-санітарні, лікувально-профілактичні) складаються з трудових та матеріальних: вартість використаних профілактичних препаратів; оплата праці робітників, які пов'язані з проведенням лікувально-профілактичних та оздоровчих заходів.

Припустимо, що профілактичні заходи проводять головний рибовод і іхтіопатолог, загальні витрати на оплату праці яких 8400 грн.

Сума витрачених коштів на заходи з профілактики наведені в таблиці 1 «Витрати на профілактичні заходи»

Таблиця 1

Витрати на профілактичні заходи

№ з/п	Профілактичні заходи	Витрачені кошти, грн
1.	Лікувально-профілактичні препарати	3032,30
2.	Оплата праці робітників	8400
3.	**Всього***(п.1+п.2)*	**11432,30**

За проведеними розрахунками загальні витрати на протиепізоотичні заходи складають 11432,30грн.

Визначення економічної ефективності проведених лікувально-профілактичних і оздоровчих заходів.

Економічна ефективність профілактичних заходів - це різниця між попередженими в результаті проведення лікувально-профілактичних і оздоровчих заходів економічним збитком і витратами, які понесені на їх проведення. Визначається за формулою (2)

$$\mathbf{Е = Зп - Во, \qquad (2)}$$

де **Зп** – попереджений економічний збиток, грн;

Во – витрати на лікувально-профілактичні заходи, грн.

Вчасно проведені профілактичні заходи у цілому зберігають до 25% рибної продукції. Значну роль мають заходи з профілактики сапролегніозу ікри під час її інкубації. Таким чином, на господарстві попереджений збиток 25% від загальної ціни за реалізовану продукцію, що в грошовому еквіваленті становить 81437,50 грн.при загальних витратах на профілактичні заходи 11432,30 грн.

Виручка від реалізації продукції:

5000 кг * 65,15 грн./кг = 325750 грн.

325750 грн. * 25 % = 81 437,50 грн.

Економічна ефективність заходів з профілактики (Е) на господарстві відображена в таблиці 2 «Економічна ефективність проведених лікувально-профілактичних і оздоровчих заходів».

Таблиця 2

Економічна ефективність проведених лікувально-профілактичних і оздоровчих заходів

№ з/п	Показники	Величина, грн
1.	Збережена ціна реалізованої продукції, грн	81437,50
2.	Витрати на профілактичні заходи, грн	11432,30
3.	Економічна ефективність профілактичних заходів, грн. *(п.1-п.2)*	70005,20

Отже, запропоновані профілактичні заходи у господарстві дають можливість отримати більшу виручку за реалізовану продукцію в розмірі 395755,20 грн за рахунок попередженого збитку при загальних витратах на їх проведення у розмірі 11432,30 грн (табл. 1).

Економічна ефективність в такому випадку становитиме 70005,20 грн.:

81437,50 грн - 11432,30 грн = 70005,20 грн

Виручка від реалізації продукції після проведення профілактичних заходів:

325 750 грн + 70005,20 грн = 395755,20 грн

Витрати на виробництво після проведення профілактичних заходів становитимуть 191432,30 грн:

180 000 грн + 11432,30 грн = 191432,30 грн

Прибуток після проведення профілактичних заходів становитиме 204322,90 грн.

395755,20 грн – 191432,30 грн = 204322,90 грн.

Обчислені показники вносимо у зведену порівняльну таблицю 3.

Таблиця 3

Економічна ефективність вирощування товарного коропа

№ з/п	Показники	Величина	
		до проведення профілактичних заходів	після проведення профілактичних заходів
1.	Виловлено продукції, т	6,5	6,5
2.	Реалізовано продукції, т	5	5
3.	Ціна реалізованої продукції за 1 кг, грн	65,15	65,15
4.	Виручка від реалізації	325 750	395755,20

	продукції, грн. *(п.2*п.3)*		
5.	Витрати на виробництво, грн	180 000	191432,30
6.	Прибуток, грн. *(п.4-п.5)*	145750	204322,90
7.	Рентабельність, %*(п.6:п5*100)*	81	107

З розрахунків можна зробити висновок, що запропоновані профілактичні заходи у господарстві дають можливість отримати більшу виручку за реалізовану продукцію в сумі 395755,20 грн при загальних витратах на їх проведення у розмірі 191432,30 грн (табл. 3). Внаслідок чого, рентабельність підприємства збільшиться на 26% (107%-81%), що дає підстави стверджувати про доцільність та необхідність проведених лікувально-профілактичних і оздоровчих заходів при вирощуванні товарного коропа.

Варіанти індивідуальних завдань

№ з/п	Показник	В. 1	В. 2	В. 3	В. 4
1.	Вапно, т	5,9	5,7	5,8	5,6
2.	Ціна вапна, грн./кг	0,41	0,39	0,42	0,40
3.	Малахітовий зелений, г	520	510	525	515
4.	Ціна малахітового зеленого, грн/кг	550	540	555	545
5.	Метиленовий синій, г	270	260	275	265
6.	Ціна метиленового синього, грн/кг	430	420	440	410
7.	Фіолетовий «К», г	480	470	485	475
8.	Ціна фіолетового «К», грн/кг	440	420	450	435
9.	Виловлено продукції, т	6,5	5,7	6,3	6,1
10.	Реалізованої продукції, т	5	4,9	5,1	4,95
11.	Витрати на виробництво, грн.	180000	160000	170000	165000
12.	Загальні витрати на оплату праці іхтіопатолога та рибовода	8400	8350	8375	8420

Запитання для самоконтролю:

1. Як проводиться розрахунок витрачених коштів на лікувально-профілактичні препарати..

2. Економічна ефективність проведених лікувально-профілактичних і оздоровчих заходів, чинники залежності.
3. Барвники, які зачасту використовуються для профілактичних обробок, фармакологічна дія.

Практичне заняття № 21

Тема: Експериментальний метод підтвердження етіологічної ролі збудника в біологічній пробі

Мета заняття: опрацювати експериментальний метод підтвердження етіологічної ролі збудника в біологічній пробі

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Теоретично описати і надати посилання на матеріали для опрацювання експериментального методу підтвердження етіологічної ролі збудника в біологічній пробі

Виділення бактерій з організму хворої риби не завжди свідчить про їх причетність до цього захворювання. За Р. Кохом, етіологічна роль мікроорганізму визнається доведеною, якщо він завжди виділяється за цієї хвороби, не зустрічається у здорових особин, а в експерименті в разі зараження викликає характерні клінічні ознаки захворювання. При цьому, його можна реізолювати повторно з патологічного матеріалу експериментально зараженого організму.

Експериментальний метод з'ясування етіологічної ролі збудника в біологічній пробі використовують для перевірки патогенності виділеної мікрофлори та вірусів в експериментальних умовах, для підтвердження остаточного діагнозу на інфекційну хворобу, а також вирішення питання про зняття карантину або карантинних обмежень з рибного господарства.

Запитання для самоконтролю:

1. Способи виділення бактерій.
2. Характерні ознаки захворювання, на основі реізоляції патологічного матеріалу.
3. Накладання та зняття карантину та карантинних обмежень для рибного господарства.

Практичне заняття № 22

Тема: Діагностичне значення гематологічних показників

Мета заняття: опрацювати та описати діагностичне значення гематологічних показників

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Описати, проаналізувати основні функції крові%;
2. Знайти і замалювати форменні елементи крові, вказати їх значення.

Основні функції крові – транспортування кисню, необхідного для процесів окиснення до клітин та тканин організму, поживних речовин з кишечнику для процесів асиміляції; виведення продуктів дисиміляції із тканин; участь у фізико-хімічній регуляції організму (кислотно-лужної рівноваги та колоїдно-осмотичного тиску); захист організму від шкідливих впливів. Картина крові у риб (кількісні показники червоної і білої крові та морфологічні характеристики формених елементів) залежить від багатьох факторів: гідрохімічного режиму, значного коливання температури, збалансованості та якості кормів, наявності забруднюючих речовин, фізіологічного стану організму. В умовах, що відповідають фізіологічним нормам, підтримується певна сталість морфологічно-хімічного складу крові.

Еритроцити риб – овальної форми, мають ядро. Їх кількість залежить від віку, статі, фізіологічного стану тощо. У хворих риб спостерігаються патологічні зміни еритроцитів – анізоцитоз (відмінності у розмірі), пойкілоцитоз (наявність еритроцитів неправильної форми), гемоліз (руйнування), зміна структури ядра, його лізис (каріолізис) тощо.

До основних гематологічних показників, які використовуються під час діагностування хвороб риб можна віднести кількість еритроцитів і лейкоцитів, їх співвідношення, рівень гемоглобіну, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), лейкограма, якісні характеристики формених елементів крові. З біохімічних показників найчастіше визначають вміст у крові цукру, загального білка та його фракцій, активність основних ферментів (каталази, пероксидази, ацетилхолінестерази і багатьох інших).

Дослідження функціональних змін в організмі риб за допомогою гематологічних та біохімічних методів досить показові та мають діагностичне значення. За зміною кількісних та якісних характеристик показників крові можна зробити висновки про характер патологічних процесів, які відбуваються в організмі риб, що дозволяє уточнити діагноз хвороби.

Запитання для самоконтролю:

1. Значення і функції крові.
2. охарактеризуйте картину крові риб.
3. Основіні гематологічні показники для діагностики хвороб риб.
4. Назвіть приклади хвороб, які потребують гематологічного дослідження для підтвердження діагнозу.

Практичне заняття № 23

Тема: Методи підвищення життєстійкості риб під час інфекційних захворювань

Мета заняття: опрацювати та описати методи підвищення життєстійкості риб під час інфекційних захворювань

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Розробити схему недопущення виникнення інфекційного захворювання з послідовним розписуванням (покрокова інструкція) на повносистемних рибницьких господарствах.

Інфекційні хвороби риб реєструються в усіх типах рибних господарств, а особливо, під час вирощування риби за інтенсивних технологій, в індустріальних господарствах, коли високі щільності посадки збільшують контакт між здоровими та хворими особинами. У природних водоймах епізоотії, викликані бактеріями, вірусами, грибами реєструються рідко.

До інфекційних хвороб риб відносять:

- *бактеріальні хвороби*;
- *вірусні хвороби;*
- *мікози риб*.

Комплекс профілактично-лікувальних заходів при інфекційних хворобах риб спрямований на:

- локалізацію вогнища інфекції;
- недопущення поширення збудника захворювання як у межах, так і поза межами господарства;
- дотримання ветеринарно-санітарних вимог.

Основну увагу звертають на створення сприятливих умов вирощування, зокрема гідрохімічного режиму, підвищення неспецифічної резистентності організму риб (згодовування доброякісних збалансованих кормів з необхідною кількістю вітамінів, особливо аскорбінової кислоти), запобігання стресуванню риби під час рибоводних маніпуляцій, проводять дезінфекцію ставів, рибоводного інвентарю, знижують бактеріальну контамінацію водного середовища шляхом вапнування. Для лікування хворих риб використовують антибіотики, метиленовий синій та ін.

Запитання для самоконтролю:

1. Заходи недопущення виникнення захворювання при перевезенні ікри на стадії вічка.
2. Заходи недопущення виникнення захворювання при перевезенні малька.
3. Заходи недопущення виникнення захворювання при перевезенні маточного поголів’я.

Практичне заняття № 24

Тема: Вакцинація риб

Мета заняття: опрацювати теоретично принцип вакцинації риб

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Описати, замалювати і провести порівняльний аналіз проведення вакцинації в аквакультурі.

Принципи вакцинації. Під час вакцинації рибам вводяться знешкоджені хвороботворні бактерії. Ці так звані антигени активують в організмі риб захисні імунні реакції, не викликаючи розвитку хвороби. У щеплених риб специфічна захисна система «вчиться» швидко розпізнавати бактерію. Коли наступного разу та ж сама бактерія потрапить в організм, імунна система буде здатна дати їй відсіч до того, як вона встигне спровокувати захворювання. Вакцини відпускаються строго за рецептом іхтіопатолога.

Склад вакцин. Вакцини містять частинки бактерій-збудників, а також допоміжні речовини (ад'юванти). Ад'ювант на масляній основі запускає захисну реакцію, викликаючи локальне подразнення в місці ін'єкції. За рахунок цього в даному місці активуються захисні клітини, в т.ч. макрофаги (фагоцити), необхідні для більш ефективної імунної реакції. Щеплення, що містить виключно антигени, не гарантує достатнього захисту від збудників хвороб риб. Крім того вакцина на масляній основі довше залишається в черевній порожнині, що сприяє формуванню імунної відповіді.

Під час проведення вакцинації необхідно обов'язково слідувати інструкціям виробника щодо зберігання і використання препарату. *Категорично забороняється змінювати рекомендовану дозу і концентрацію складу для ін'єкцій.* Виробник не несе відповідальність за шкоду, заподіяну в результаті неналежного застосування препарату. Вакцина зазвичай зберігається в холодильнику, при цьому не можна допускати її заморожування. Відкриту ампулу або пакет потрібно використати протягом доби.

На етапі доставки вакцини до рибного господарства необхідно провести додаткову перевірку. На дні ампули з вакциною на водній основі зазвичай міститься невелика кількість осаду. Вакцина на масляній основі має білий або світло-жовтий відтінок. Деякі вакцини після тривалого перебування в нерухомому стані розшаровуються на дві частини. Через осад перед застосуванням ампулу з вакциною необхідно ретельно струснути.

Якщо колір вакцини здався вам дивним, або в розчині присутній темний осад, або ви помітили будь-які інші відхилення, негайно зверніться до постачальника. Перевірте термін придатності вакцини і переконайтеся в

тому, що вона не прострочена, запишіть номер партії використаного препарату.

Методи вакцинації риб:

- Ін'єкційний (ін'єкцію роблять у черевну порожнину, перед черевними плавниками) (рис. 19);
- Вакцинація шляхом занурення (занурення риб у ємкість із розведеною вакциною);
- Оральна вакцинація (введення вакцини з кормом).

Рис. 19. Ін'єкційний метод вакцинації риб

Перед вакцинацією і після неї, незалежно від застосовуваного методу, риб витримують на голодній дієті протягом 1-2 діб.

Оптимізація вакцинації риб

Розмір риби. Розмір і вік риби впливають на ефективність вакцинації. Вік, коли відбувається остаточне формування імунної системи, у різних видів риб дуже різний. Так, у мальків лосося ознаки виникнення захисної реакції діагностуються вже за маси 1 г. Але якщо від вакцинації очікуються максимальні результати, маса риби повинна становити не менше 5 г. При ін'єкційному способі введення вакцин (як вручну, так і автоматизовано) маса риби повинна становити не менше 15 г.

Температура води. Риби є холоднокровними тваринами, фізіологічні функції яких сповільнюються, коли температура навколишнього середовища опускається значно нижче оптимального рівня. Те ж саме відбувається і з захисними механізмами організму. Якщо рибу вакцинувати в холодній воді, розвиток імунної реакції триватиме 3-4 місяці, виходячи з кількості градусо-діб. При температурі вище 8°С імунна відповідь буде формуватися протягом 4-6 тижнів, в залежності від температури води і способу проведення вакцинації. *Щеплення не можна робити при температурі води вище 15°С або в морозну погоду*.

Запитання для самоконтролю:

1. Принцип та склад вакцини.
2. Правила проведення вакцинації в умовах аквакультури.
3. Оптимізація вакцинації риб.

ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 3

СПЕЦІАЛЬНА ІХТІОПАТОЛОГІЯ

(ІНВАЗІЙНІ І НЕЗАРАЗНІ ХВОРОБИ РИБ)

Практичне заняття № 25

Тема: Найбільш поширені інвазійні хвороби риб

Мета заняття: Описати і опрацювати найбільш поширені інвазійні хвороби риб

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Описати принципи виникнення інвазійних хвороб, способи поширення;
2. Провести диференціацію між проміжними та основними дефінітивними хазяїнами.

Залежно від таксономічного положення паразита інвазійні хвороби риб можна умовно поділити на протозоози, які викликаються найпростішими, гельмінтози, що спричинюються червами (моногенеями, амфілінами, цестодами, трематодами, скребнями, нематодами, п’явками), крустацеози, причиною яких є найпростіші ракоподібні (паразитичні веслоногі, зяброхвості, рівноногі), молюскози, викликані глохидіями (личинками двостулкових молюсків) та інвазії осетрових, викликані кишковопорожнинними – поліподіумом.

Для рибницьких господарств найбільш небезпечними є хвороби, що викликаються найпростішими та гельмінтами, особливо тими, які розвиваються без проміжних хазяїв. Чисельність таких паразитів швидко зростає, за значного скупчення риби вони легко поширюються, що призводить до виникнення хвороби, а інколи, і до загибелі риби, особливо молоді.

Наявність паразитів не завжди свідчить про захворювання. Для прояву їх патогенності необхідні відповідні умови: оптимальні для розвитку інвазійного збудника, що сприяло б збільшенню його чисельності та несприятливі для організму хазяїна, зокрема риби, які викликають зниження загальної резистентності, вгодованості, погіршення фізіологічного стану. Кількість паразитів, які локалізуються на рибі може значно різнитися – від одного чи декількох до сотень і тисяч екземплярів.

Так, за іхтіободозу на інвазованій рибі на 1 см^2 може нараховуватися десятки тисяч джгутиконосців, а у мальків коропа на зябрах – до 500 екз. дактилогірусів.

Залежно від характеру клінічних ознак, інтенсивності інвазії та тривалості інвазійні хвороби риб можуть мати гостру та хронічну форми

перебігу. Гостра форма перебігу інвазійних хвороб спостерігається у риб молодших вікових груп (личинок, цьоголіток, однорічок) і переважно супроводжується значною їх загибеллю. Досить часто інвазійні хвороби риб, як і інфекційні, за різних збудників мають схожі зовнішні прояви (зміни у поведінці, ослизнення зябер, поверхневих покривів, схуднення тощо). Важливу роль у розповсюдженні та формі прояву інвазій відіграють проміжні та допоміжні хазяї, а також паразитоносійство, за якого клінічні ознаки хвороби у зараженої риби не проявляються, але вона є джерелом інвазії.

Профілактика інвазійних хвороб передбачає весь комплекс ветеринарно-санітарних, рибоводно-меліоративних заходів, спрямованих на створення сприятливих для вирощування риб умов. Санітарний стан ставів поліпшують шляхом вапнування, осушування, дезінвазії і проморожування ложа, не допускають спільного утримання риб старших вікових груп з молоддю. Підбір видів риб для вирощування в полікультурі здійснюють з урахуванням епізоотичної ситуації. Проводять профілактичну та лікувальну обробку риби згідно існуючих ветеринарно-санітарних вимог.

За складного циклу розвитку паразита основні заходи з профілактики спрямовані на розрив циклу розвитку збудника шляхом знищення проміжних живителів – фізичними (осушення, промороження ложа ставів), хімічними (обробка ложа ставів хлорним або негашеним вапном, сульфатом міді) і біологічними методами (вирощування молюскофага – чорного амура, підвищення елімінаційного потенціалу водних екосистем щодо церкаріїв збудника, біологічне очищення від інвазійних агентів), боротьба з дефінітивними живителями – рибоїдними птахами.

За гельмінтозів заходи боротьби та профілактики здійснюються у двох напрямах: дезінвазія ложа ставів та проведення дегельмінтизації інвазованої риби.

Запитання для самоконтролю:

1. Принцип виникнення паразитарних хвороб.
2. первинна та вторинна інвазованість природних водойм.
3. Способи профілактики інвазій.
4. за яким принципом проходить дезінвазія природних водойм?

Практичне заняття № 26

Тема: Методи вивчення збудників протозойних хвороб риб

Мета заняття: засвоєння методу збору, фіксації джгутиконосців, виготовлення тимчасових і постійних мікропрепаратів. Вивчення морфологічних особливостей джгутиконосців, визначення паразитів.

Матеріали та обладнання: жива риба, мікроскоп, препарувальна лупа, інструментарій, предметні і покривні скельця, скельця з шліфованим краєм, різні піпетки, емальовані кювети, чашки Петрі, лабораторні солонки,

матеріальні банки для зберігання мазків, антикоагулянти, формалін, етиловий спирт (50°-ний, 70°-ний, 90°-ний, 97°-ний, абсолютний, йодований 70°-ний), метиловий спирт або суміш рівних частин етилового спирту і ефіру (суміш Нікіфорова), ксилол, 3%-ний розчин пікринової кислоти, фарбник Романовського, канадський бальзам, дистильована вода, фіксовані мазки, лабораторна колекція мікропрепаратів джгутиконосців, визначник паразитів риб.

Завдання:

1. Провести виділення одноклітинних паразитів із живої риби, шляхом створення нативних препаратів.

Протозойні хвороби риб викликаються паразитами, які відносяться до підцарства найпростіших (*Protozoa*) – тварин, які складаються із однієї клітини, рідше із невеликого числа клітин. У більшості *Protozoa* одна клітина функціонує, як цілий організм.

Клітина протозойного паразита складається із цитоплазми і одного або декількох ядер. Цитоплазма включає поверхневий шар – ектоплазму і більш рідку частину – ендоплазму, в якій розташовується ядро, вакуолі та інші органоїди. Ектоплазма може бути щільною, завдяки цьому підтримується постійність форми тіла простіших. Травлення здійснюється за допомогою травної вакуолі. У більшості простіших є цитостом (ротовий отвір), у деяких – смоктальні щупальці. Є видільні дихальні вакуолі. Пересування простіших здійснюється за допомогою джгутиків, війок і псевдоподій. За певних умов деякі найпростіші здатні утворювати цисту спокою і переживати несприятливі умови, тобто оточувати себе будь-якою захисною оболонкою і впадати в стан анабіозу, при якому всі життєві процеси сповільнюються. В цей час тварина не рухається, не споживає їжу.

Розмножуються простіші безстатевим шляхом: простим діленням на дві особи або множинним діленням шизогонії – на велике число особин. У ряді випадків до цього безстатевого розмноження приєднується статевий процес, при якому відбувається або повне злиття клітин та їх ядер (копуляція), або їх тимчасове злиття, при якому відбувається обмін ядерної речовини (кон’югація). В обох випадках має місце оновлення ядерної речовини тварин.

Основна стадія на яку припадає функція живлення, росту і безстатевого розмноження називається вегетативною стадією, або трофозоїтом.

Підцарство простіших включає типи джгутикових, споровиків, війчастих інфузорій, книдоспоридій, мікроспоридій, саркодових.

Організація і проведення роботи. Із типу джгутикових *Mastigophora* у риб паразитують представники декількох родів: *Ichthioboda, Cryptobia, Trypanosoma, Hexamita*.

Це дрібні паразити, пересуваються за допомогою 1, 2, 3, 4, 8 і більше джгутиків. Форма тіла овальна, завдяки наявності пелікули (ущільнена ектоплазма). В цитоплазмі розташовані окремі органели (ядро, вакуолі, блефоропласт, центросома і інше), виконуючі різні функції. Живляться

джгутиконосці всією поверхнею тіла, їжа перетравлюється в травних вакуолях.

Порядок виконання роботи:

1. ***Збір матеріалу***. Роблять зскребки з поверхні тіла, ротової порожнини і носових ямок, поміщають їх на окремі покривні скельця, додають 1-2 краплі води. Готують мазок крові, підсушують накривши чашкою Петрі. Краплю крові поміщають на предметне скло і накривають його покривним склом.

Видаляють зяброві дуги, роблять зскребок на склі для розтину і додають декілька крапель води. Роблять розтин риби. Вилучають і проводять розтин кишечника, роблять клячпрепарати і зскребки з внутрішньої стінки кишечника. Зскребки поміщають на предметне скло, додають 1-2 краплі води. Вилучають жовчний і сечовий міхур, розтинають їх і вмістиме поміщають на предметне скло і накривають покривним. Готують мазок крові загальноприйнятим методом.

2. ***Вивчення живих паразитів.*** Зскребок з поверхні тіла проглядають під збільшенням мікроскопу 7х40. При виявленні паразитів зскребок накривають покривним склом. Підраховують кількість джгутиконосців в 25 полях зору мікроскопу з визначенням середньої величини, вказуючи мінімальну і максимальну кількість паразитів в полі зору. Дані підрахунку записують у зошит. Розглядають окремих паразитів, замальовують їх загальний вигляд. Таким чином вивчають зскребки з ротової порожнини, носових ямок, зябер, кишечника, сечового і жовчного міхурів, черевної порожнини, а також краплю крові.

3. ***Виготовлення постійних препаратів.*** Готують мазок із зскребків з поверхні тіла, зябер, носових ямок, ротової порожнини, для чого покривне скло легесенько притискають до предметного і зсувають з нього. Одержані мазки підсушують на повітрі, опускають слизом до низу в бюкс з рідиною Шаудина і витримують протягом 15-20 хв. Мазки за допомогою пінцету промивають в 70°-му спирті, виймаючи і опускаючи по декілька разів, потім вносять йодований спирт на 20-30 хв для видалення залишків сулеми. Після йодування мазки знову промивають в 70°-му спирті. Виготовлені таким способом мазки можуть зберігатися протягом тривалого часу в 70°-му спирті в скляних циліндрах із притертими корками. Скельця кладуть мазком донизу і відокремлюють один від одного вирізаними із щільного паперу кружечками. Скельця кожної проби відокремлюють кружечками, на яких олівцем (простим) пишуть етикетку.

Для приготування препаратів мазки із 70°-му спирту виймають і промивають в дистильованій воді протягом 3-5 хв. Промиті мазки вносять для протравлювання в 3%-ий розчин залізоамонійних квасців на 12–24 год. Потім промивають водою декілька хвилин і вносять на 12 год для фарбування в залізний гематоксилін, після фарбування сполощують мазки проточною водопровідною водою.

Добре пофарбовані мазки мають темно синє, або майже чорне забарвлення (рудий колір свідчить про неякісний фарбник). Відмиті мазки вносять на диференціювання в 1,5%-ий розчин залізоамонійних квасців, контролюючи процес під мікроскопом. На добре віддиференційованих препаратах ядра джгутиконосців світло-синього кольору, цитоплазма прозора. Якщо препарат передиференційований, колір його блідо коричневий. Для видалення рудого забарвлення мазки вносять в аміачну воду на 3-5 хв. Добре віддиференційовані мазки промивають в проточній водопровідній воді протягом 2 год. Потім мазки зневоднюють, почергово витримуючи по 3-5 хв в спиртах зростаючої концентрації: 50°, 70°, 90°, 96°, абсолютному і в кислоті.

На чисте знежирене предметне скло препарувальною голкою наносять 1-2 краплі канадського бальзаму. До краю бальзаму обережно наближають покривне скельце з мазком, і притримуючи один кінець голкою, поволі опускають його на бальзам. Тильною стороною препарувальної голки притискають мазок до скла так, щоб шар бальзаму був невеликим, і між покривним і предметним склом не було бульбашок повітря, і щоб він не розтікався по предметному склу навколо покривного. Бальзам, що виступив за межі покривного скла, обережно збирають шматочком згорнутої марлі, змоченої в кислоті. Покривне скло з мазком слід притримувати, щоб воно не зрушилось з місця.

Готовий препарат проглядають під мікроскопом для того, щоб виявити помилки, допущені при його виготовленні. Наявність в препараті бульбашок повітря свідчить про те, що покривне скло опускали недостатньо обережно. При виявленні в препараті будь-яких волокон слід перевірити чистоту скелець. Встановивши причину забруднення препарату, її необхідно усунути і лише після цього обробляти наступні мазки.

На вільний край предметного скла наклеїти етикетку із зазначенням виду і віку риби, органу, місця вилову та іншими даними. Таким же чином виготовляють постійні мікропрепарати із джгутиконосців, знятих із ротової порожнини, нюхових ямок, кишечнику та інших органів.

Із кровопаразитами діють наступними чином. Підсушений на повітрі мазок крові фіксують в метиленовому спирті протягом 4-5 хв. Фіксовані мазки можна зберігати непофарбованими протягом 1 місяця не допускаючи їх забруднення. Мазки, зафіксовані одним із вказаних способів, фарбують фарбою Романовського протягом 20–30 хв. При використанні готової фарби Романовського необхідно перевірити її якість, пофарбувавши декілька препаратів і перевіривши їх під мікроскопом. Якщо препарати погано зафарбовані, їх дофарбовують протягом 5-10 хв. Після фарбування мазки промивають у воді, а потім висушують, помістивши на фільтрувальний папір. Добре пофарбований і відмитий мазок має червонуватий відтінок. Пофарбований препарат розглядають під великим збільшенням мікроскопу (7х40). Джгутиконосців слід шукати в місцях найменшого скупчення формених елементів крові. На пофарбованих препаратах джгутиконосці мають вид подовжених тілець дещо більшого розміру, ніж еритроцити. У

Trypanosoma добре помітний один джгутик, розташований на одному із кінців тіла, у *Cryptobia* їх два – по одному на кожному кінці.

4. ***Визначення паразитів.*** Виготовлені або вже готові препарати поміщають під мікроскоп і вивчають під масляною імерсією (7-10х90). Розглядають і замальовують розташування ядерного апарату, джгутиків та інших органел. Вимірюють довжину і ширину паразитів, ядерного апарату. За допомогою визначника визначають видову належність джгутиконосців і роблять надпис на етикетці препарату. Результати роботи оформляють у зошиті.

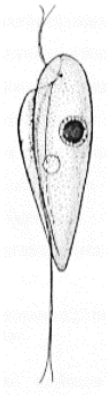


Рис. 20. ***Costia necatrix*** (син. ***Ichtiobodo necatrix***)

Хвороба. Костіоз (іхтіободоз) – захворювання шкіри і зябер молоді риб.

Хазяї: Найбільш промислові види риб

Локалізація: зябра і шкіра.

Географічне поширення: водойми басейнів Чорного та Азовського моря.

Макроскопічне дослідження

Паразит неозброєним оком не виявляється.

Мікроскопічні дослідження

1. Методи дослідження:

а) Біопсія уражених тканин.

б) Виготовлення препаратів на предметному склі.

2. Мікроскопічні особливості:

При перегляді ураженої тканини при великому збільшенні мікроскопу виявляється маса паразитів: одні з них знаходяться на поверхні тканини, інші за допомогою джгутиків активно плавають.

Костію, як правило, спостерігають в прикріпленому виді на зябрах і шкірі риби: крупний джгутиконосець 5-20 мкм, ширина 2,5-10,0 мкм; вільно плаваючі паразити мають більш овальну форму, а прикріплені більш клиновидну; довжина 5-20 і ширина 2,5-10,0 мкм; всередині цитоплазми добре розрізняються маленьке кругле ядро і розташована поблизу від нього скорочувальна вакуоля; на черевній стороні є повздовжній вигнутий жолобок, який закінчується ротовим отвором; біля нього починаються 2 або 4 спрямовані до заду джгутики різної довжини, з них два більш довгих – вільні,

інші два (якщо вони є) прилягають щільно до борозни; розмножується костія діленням.

Рис. 21. ***Hexamita (Octomitus) truttae***

Хвороба. Гексамітоз лососевих.

Географічне поширення: давно відоме захворювання яке також викликається джгутиконосцями при вирощуванні лососевих як в Європі, так і в Північній Америці.

Хазяї: кумжа, форель струмкова, лосось, райдужна форель, інколи стерлядь.

Локалізація: кишечник, інколи жовчний міхур. Зараження відбувається шляхом заковтування цист паразита, які потрапляють у воду з екскрементами інвазованих риб. Джгутиконосець не прикріплюється до стінки кишечника або жовчного міхура, а плаває в їх вмісті.

Мікроскопічне дослідження

1. Методи дослідження

а) Пряме мікроскопічне дослідження вмісту кишечника і жовчного міхура, безпосередньо розведених на предметному склі в фізіологічному розчині солі.

б) Пряме мікроскопічне дослідження вмісту, до якого додається крапля 1%-го розчину еозину, розчин йоду – йодистого калію або розчин кришталвіолету і основного фуксину.

Мікроскопічні особливості: порівняно невеликі джгутиконосці грушовидної форми; довжина тіла 7-1,5, ширина 3-6 мкм; мають два ядра і два парабазальних тіла, розташованих а передньому кінці; чотири пари джгутиків, із них три пари відходять від переднього кінця, а одна пара починається з переднього кінця, проходить в середину цитоплазми вздовж всього тіла і тільки на задньому виходить на зовні; всередині цитоплазми знаходять основи задніх джгутиків які володіють гомогенною структурою; блефаропласти всіх 8 джгутиків розташовані двома групами по 4 на передньому кінці тіла; розмножуються поділом.

Запитання для самоконтролю:

1. Спосіб фіксації найпростіших.
2. Загальні правила роботи з живою рибою при відборі матеріалу.

3. Принцип мікроскопії оноклітинних паразитів.
4. Гексамітоз лососевих.
5. Обладнання для мікроскопічного дослідження препаратів.

Практичне заняття № 27

Тема: Міксоспоридіози риб

Мета заняття: засвоєння методів збору міксоспоридій, виготовлення тимчасових і постійних мікропрепаратів. Вивчення морфологічних особливостей і систематичного складу міксоспоридій.

Матеріали та обладнання: мікроскоп з об'єктивами х 8-10, х 40, х 90, окулярами х 7, х 10, х 15, предметне і покривне скло, препарувальні голки, пінцети, ножиці, хірургічні і очні скальпелі, піпетки (з грушевидним балоном, очні, пастерівські), емальовані кювети, чашки Петрі, мікропрепарати різних видів міксоспоридій, жива риба, визначники паразитів.

Завдання:

1. Опрацювати, замалювати і розробити схему профілактики міксоспоридіозів риб.

Організація і проведення роботи. Клас міксоспоридій (*Myxosporidia*) або слизових споровиків, відноситься до типу книдоспоридій. Вони досить широко поширені серед прісноводних і морських риб, локалізуються в будь-яких органах і тканинах. У риб зустрічаються вегетативні стадії і спори міксоспоридій. Вегетативні форми порожнинних міксоспоридій являють собою різноманітної величини і форми рухливі амебоїди. Тканинні міксоспоридії частіше зустрічаються у вигляді овальних нерухомих утворень, оточених оболонкою, цист, досягаючи величини горошини, хоча звичайний їх розмір 1-2 мм.

Розмножуються міксоспоридії частіше безстатевим шляхом. Спочатку збільшується число ядер, потім відбувається ділення цитоплазми та її відбрунькування, далі формуються спори. У дрібних порожнинних міксоспоридій утворюється 2-4 спори. У крупних тканинних плазмодіях число спор досягає сотень і навіть тисяч.

Зрілі спори міксоспоридій побудовані за єдиною схемою, але кожний вид має свої відмінності (рис. 22). Ззовні вони мають щільну оболонку яка складається із двох або декількох стулок, з'єднаних одна з одною швом і повним валиком. Форма стулок різна. Окрім того, стулки ззовні можуть мати відростки різної довжини і конфігурації. Всередині стулок в задній частині спори розташований амебоїдний зародок і йодофільна вакуоль. У передньому або протилежних кінцях спори поміщені дві і більше полярні капсули, в яких розташована, скручена спіраллю стрекальна нитка. Спереду полярних капсул знаходиться інтеркапсулярний відросток.

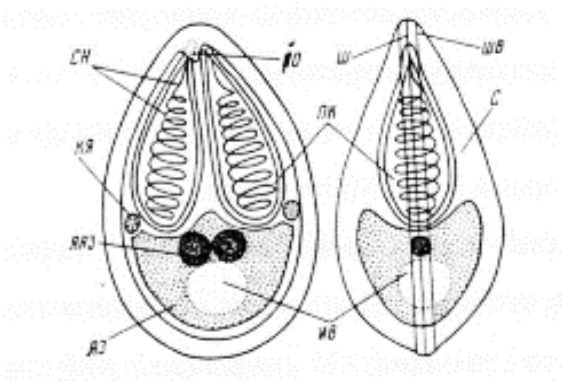


Рис. 22. Схема будови спор *Myxosporidia*
АЗ – амебоїдний зародок; ЙВ – йодофільна вакуоль; ІВ – інтеркапсулярний відросток; КЯ – капсулогенні ядра; ПК – полярні капсули; С – стулки; СН – стрекальна нитка; Ш – шов; ШВ – шовний валик; ЯАЗ – ядра амебоїдного зародка (за Муселіус, 1983)

Спори потрапляють у воду після розриву цист, які знаходяться на шкірі, зябрах, через кишечник, жовчний і сечовий міхури, а в деяких випадках тільки після смерті хазяїна, наприклад спори *Myxosoma cerebralis* – збудника вертячки, що локалізується в хрящовій тканині риб. Після заковтування спори рибою стрекальні нитки з силою викидаються і укорінюються в стінки кишечника, де спора закріплюється. Потім стулки спори розкриваються по лінії шва. Амебоїдний зародок виходить із спори і укорінюється в тканину хазяїна, далі він потрапляє в кровоносну або лімфатичну систему і заноситься течією крові або лімфи в той орган, в якому даний вид міксоспоридій паразитує.

Міксоспоридії з двостулковими спорами об’єднані в ряд *Bivalvuel*, з багатостулковими спорами в ряд *Multivalvula*.

У прісноводних риб паразитують двостулкові, серед яких найбільш поширені роди *Myxydium, Shaerospora, Chloromyxum, Myxobolus, Myxosoma, Henneguya* та інші. У морських риб часто відмічають багатостулкових міксоспоридій роду *Kudoa*. Будова спор та їх розміри є систематичною ознакою при визначені виду міксоспоридій.

Порядок виконання роботи:

1. ***Збір матеріалу.*** Живу рибу знерухомлюють і вміщують в кювету з невеликою кількістю води. Уважно оглядають поверхню тіла і плавців. У деяких випадках на поверхні тіла помітні світлі горбики – цисти, які містять спори слизових споровиків. При виявленні цист їх обережно знімають за допомогою препарувальних голок. Виділені цисти поміщають на чисте покривне скло. Для запобігання висихання цист до них додають 1-2 краплі води. Для попередження забруднення цист їх накривають чашкою Петрі, при цьому під нею розміщують тимчасову етикетку, щоб запобігти плутанині і непорозумінь під час обробки патологічного матеріалу. Вимірюють довжину

риби, визначають її масу. Беруть матеріал для визначення віку риби, якщо він попередньо невідомий.

Відокремлюють зяброві дуги, кладуть на предметне скло і уважно розглядають візуально, а потім під мікроскопом. При виявленні цист їх виділяють і наносять на покривне скло, додавши воду і виконавши вимоги, які вказані на початку п. 1. На зябрових пелюстках коропових риб зустрічаються цисти міксоспоридій із роду *Myxobolus*, у щуки – із роду *Henneguya*. Проводять розтин риби, уважно оглядають поверхню внутрішніх органів і стінок черевної порожнини.

Потім оглядають і досліджують всі внутрішні органи. При виявленні цист, їх виділяють, наносять на окремі покривні скельця із кожного внутрішнього органу. Особливо обережно поводяться із сечовим і жовчним міхуром. В цих органах паразитують міксоспоридії із родів *Myxidium, Chloromyxum.*

2. ***Вивчення живих паразитів.*** Жовчний і сечовий міхур вміщують кожний окремо на предметні скельця, розтинають ножицями. Вміст із міхурів накривають покривними скельцями і розглядають під малим, а потім під великим збільшенням мікроскопу. З внутрішньої сторони міхурів роблять зскребок, покривають покривним склом і розглядають під мікроскопом. У вмісті міхурів і зскребків можна виявити амебоїдні зародки і спори міксоспоридій. При дослідженні жовчного міхура звертають увагу на жовчну протоку, де можна виявити спори і вегетативні стадії паразитів. Інші внутрішні органи і м’язи досліджують компресорним способом, взявши для цього невеликий шматочок.

Спори міксоспоридій дуже дрібні, тому їх можна розглядати тільки за допомогою імерсійного об’єктиву. При виявленні спор замальовують їх будову, вимірюють довжину, ширину, товщину та інші параметри (рис. 23). Дані вимірювань оформляють в зошиті. Звертають увагу на наявність відростків або покресленої поверхні стулок спор.

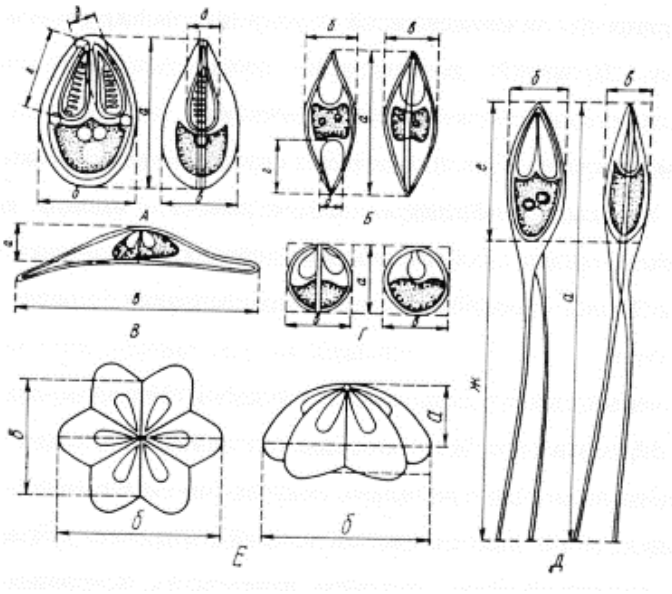


Рис. 23. Схема вимірювання спор міксоспоридій родів:

Myxobolus, Myxosoma, Hofferellus, Thelohanellus (А); *Myxidium, Sphaeromyxa, Zschokkella, Neomyxobolus, Coccomyxa* (Б); *Ceratomyxa, Leptotheca* (В); *Sphaerospora, Chloromyxum* (Г); *Henneguya, Phlogospora, Agarella, Neogenneguya, Myxobilatus (Д); Kudoa, Hexacapsula* (Е); а – довжина спори; б – ширина спори; в – товщина спори; г – довжина полярної капсули; д – діаметр полярної капсули; е – відстань від переднього кінця спори до кінця її порожнини; ж – довжина хвостових відростків (за Муселіус, 1983)

3. ***Виготовлення постійних препаратів.*** Готуються гліцерин-желатинові препарати із міксоспоридій. З тканини досліджуваного органу роблять мазок на предметному склі і при виявленні вегетативних стадій або спор паразитів мазки заключають в гліцерин-желатин. Для цього з предметного скла обережно знімають покривне скло і відкладають в бік мазком догори. Коли мазки підсохнуть, на кінчику скальпеля беруть шматочок гліцерин-желатину і нагрівають над полум'ям спиртівки до розплавлення. На легко підсушений мазок наносять 1-2 краплі гліцерин-желатину. До краплі обережно наближають зняте раніше покривне скло і притримуючи його препарувальною голкою опускають на гліцерин-желатин. Стежать за тим, щоб під склом не залишились бульбашки повітря. Щоб зменшити шар гліцерин-желатину, препарувальною голкою притискають покривне скло до предметного. Для довготривалого зберігання препарату та для запобігання його висихання на краях скла за допомогою дерев'яної палички наносять шар асфальтового лаку, або воску з каніфоллю (можна використати кедровий або канадський бальзам).

4. ***Визначення паразитів.*** Виготовленні (або препарати які вже є в наявності) препарати вивчають під масляною імерсією мікроскопа, краще у фазово-контрастному світлі. Розглядають будову спор окремих міксоспоридій. За допомогою визначника визначають видову належність міксоспоридій і роблять надпис на етикетці препарату. Звертають увагу на будову спор, стулок, взаємне розташування стрекальних капсул, особливо їх кінців. Суттєве значення у видовому визначенні має будова інтеркапсулярного відростка.

Родина: *Myxosomatidae*

Рід: *Myxosoma*

Myxosoma cerebralis (рис. 24)

Хвороба: Міксозомоз (вертячка лососевих)

Хазяї: лосось (молодь), кумжа (молодь), струмкова форель, райдужна форель, чорноморський лосось, кета, горбуша.

Локалізація: хрящ, надхрящниця черепної коробки і хребців.

Географічне поширення: ставові господарства більшості країн Європейського Союзу.

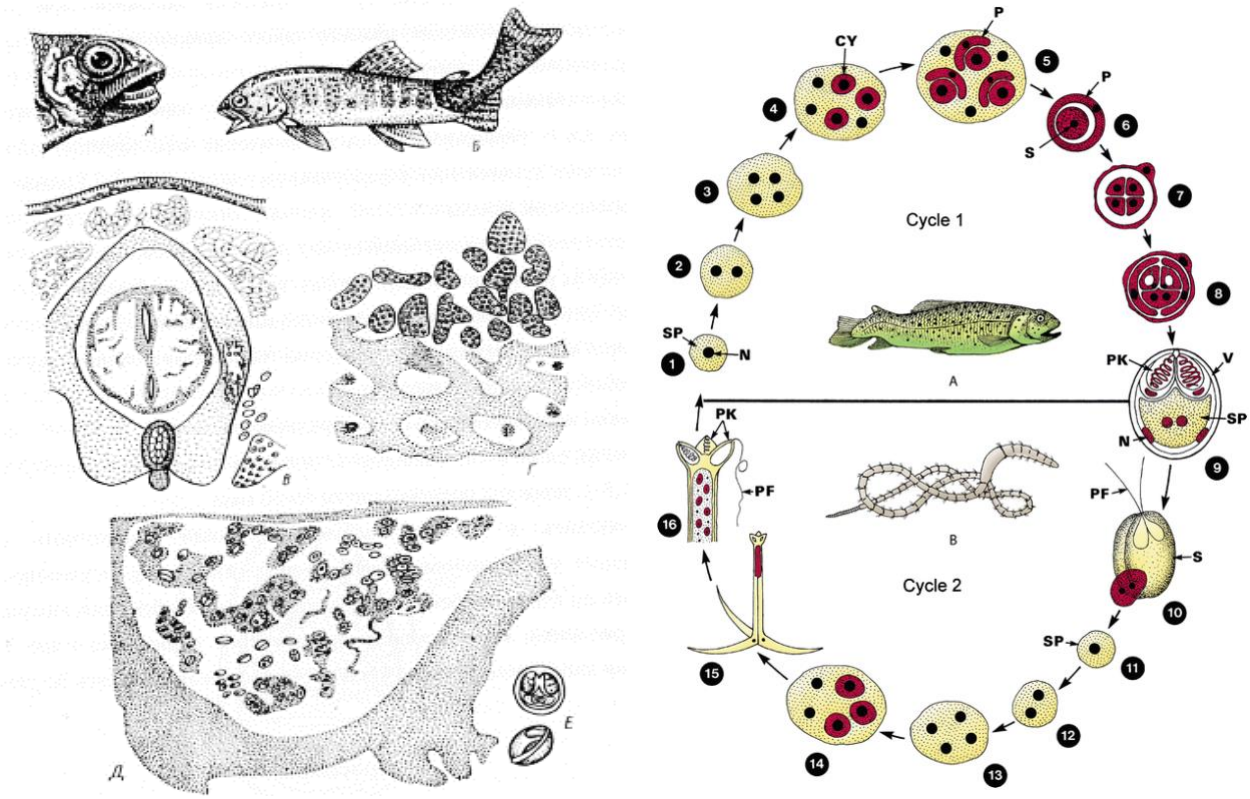


Рис. 24. *Myxosoma cerebralis*
А – форель із пошкодженим черепом; Б – форель із викревленим хребтом і почорнівшим заднім кінцем тіла (за Plehn, 1924); В – амебоїди у зруйнованому хрящі черепної коробки; Г – те ж саме, при великому збільшенні; Д – те ж саме при ще більшому збільшенні, в амебоїдах видно спори; Е – спори (за Успенська, 1959)

Макроскопічне дослідження:

Паразит неозброєним оком не виявляється.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) при спеціальному дослідженні хрящової тканини лососевих на збудника вертячки рекомендується ділянку черепа і підозрілих частин хребта дрібно розкришити (ще краще розтерти в ступці), під предметним склом виявити темні ділянки і переглянути витяжку з цього «кришева», замалювати, виміряти плазмодії, приготувати препарат, визначити, лише після цього можна сказати, що є небезпека масового захворювання. Перегляд під мікроскопом уламків такого хряща, наприклад слухової капсули, виявляє присутність спор.

Для виявлення плазмодіїв у цьоголіток (у яких ще не буває спор) застосовують гістологічний метод виготовлення серії зрізів (товщиною 5 мкм) із заочної ділянки тіла, з фарбуванням гематоксиліном Ерліха.

Мікроскопічні ознаки: вегетативні форми – амебоїди різних розмірів з псевдоподіями; по мірі їх росту число ядер збільшується до 50 і більше; амебоїди здатні до безстатевого розмноження шляхом ділення; спори сочевицеподібні у площині перпендикулярній шву, мають добре розвинутий

шовний валик; полярні капсули сходяться до переднього полюса; діаметр спор 6-10, товщина 4, довжина полярних капсул 2,5-3, їх діаметр 1,5-2, довжина полярної нитки 40-50 мкм.

Поселяючись в хрящах мальків, амебоїди викликають важке захворювання: у напівколових каналах вони руйнують орган рівноваги, що призводить до втрати рибою координації рухів; у хребті вони викликають його викривлення, пошкодження симпатичного нерва і зв'язане з цим почорніння хвостового відділу. Сильне зараження призводить до загибелі риби.

Запитання для самоконтролю:

1. Забір та фіксація матеріалу при міксоспоридіозах.
2. Виготовлення постійних препаратів за мікоспоридіозу.
3. Етіологія та патогенез міксоспоридіальної інвазії.

Практичне заняття № 28

Тема: Мікроспоридіози риб

Мета заняття: засвоєння методів збору мікроспоридій, виготовлення тимчасових і постійних мікропрепаратів. Вивчення морфологічних особливостей і систематичного складу мікроспоридій

Матеріали та обладнання: жива риба, інструментарій для паразитологічного розтину риб, мікроскопи, гліцерин-желатин, спирт абсолютний, метиловий, азур-еозин за Романовським, дистильована вода, мікропрепарати різних видів мікроспоридій, визначник паразитів.

Завдання:

1. Засвоїти методи збору мікроспоридій, виготовлення тимчасових і постійних мікропрепаратів;
2. Вивчити морфологічні особливості і систематичний склад мікроспоридій.

Організація і проведення роботи: мікроспоридії за своєю будовою і розвитком значно відрізняються від міксоспоридій і виділені в самостійний тип *Microsporidia*. Спори одноклітинного походження, із суцільної оболонки і 1-2 ядерними зародками викидаються через порожнину полярної трубки в клітину хазяїна. Вегетативні стадії з однотипними ядрами. Мікроспоридії – внутрішньоклітинні облігатні паразити.

Мікроспоридії – одні з найдрібніших паразитичних найпростіших. Довжина спор більшості видів від 3 до 8 мкм. Спори мікроспоридій, що паразитують у риб, морфологічно однорідні: овальної, подовжено-овальної або грушевидної форми, з гладенькою оболонкою (рис. 25).

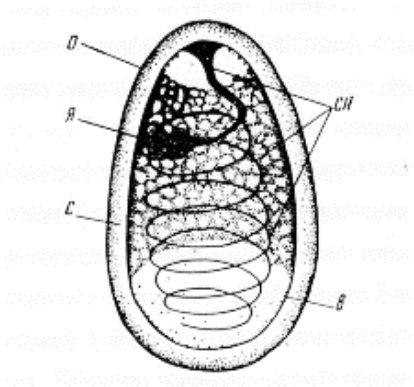


Рис. 25. Схема будови спор *Mycrosporidia* (за Биховський, 1962)
В – вакуоля; О – оболонка; С – спороплазма; СН – стрекальна нитка; Я – ядро

У живих спор добре помітна тільки задня вакуоля. У кишечнику хазяїна під впливом травних соків спора викидає полярну трубку, через просвіт якої амебоїдний зародок попадає безпосередньо в клітину або в міжклітинний просвіт кишечника, минаючи контакт з вмістом кишечника. Розмноження паразитів відбувається за типом шизогонії, на заключному етапі якої формуються спори. Інвазійні клітини хазяїна значно збільшуються в розмірах і часто помітні неозброєним оком у вигляді білих цисточок на зябрах, плавцях, під шкірою, на слизовій в інших органах.

Особливості спорогонії, розмір і форми живих спор, довжина полярної нитки є систематичними і діагностичними ознаками. Вони суттєво змінюються у фіксуючих рідинах, тому для повного вивчення мікроспоридій необхідно проводити вивчення живого і фіксованого матеріалу. У прісноводних і морських риб паразитують в основному представники родів *Glugea, Nosema, Pleistophora, Cocconema*.

Порядок проведення роботи:

Вивчення мікроспоридій складається з двох етапів: збору матеріалу в польових умовах і вивчення його в лабораторних умовах. При виготовленні мазків і фіксації матеріалу використовують в основному живих заражених риб, тому що у мертвих стадії мікроспоридій руйнуються і залишаються незмінними тільки спори.

В польових умовах готують тільки водні препарати і мазки. Водні препарати служать для зберігання живих спор паразитів протягом довготривалого часу.

Готують їх таким чином: шматочки досліджуваної тканини будь-якого органу ретельно подрібнюють і змішують з водою. Крупні залишки тканини видаляють, а суспензію спор вміщують у флакончик з водою або фізіологічним розчином. Потім краплю суспензії спор наносять на предметне скло і обережно накривають покривним. Після випаровування надлишку води, не допускаючи появи бульбашок повітря, краї покривного скла обводять розплавленим гліцерин-желатином. Зберігають такі препарати в залежності від якості замазки від декількох місяців до одного року.

Виготовлені водні препарати вивчають під мікроскопом: вимірюють не менше 25 спор і замальовують їх.

Для виявлення слизових капсул слід приготувати тушові препарати. Туш володіє фіксуючими властивостями для спор мікроспоридій і препарати можуть зберігатися протягом довготривалого часу. На чисте предметне скло наносять краплю суспензії спор і поряд розміщують таку ж краплю чорної туші. Обидві краплі перемішують і накривають покривним склом.

Через 1-2 години препарати можна досліджувати під мікроскопом. Слизові капсули мають вигляд світлого ореолу навколо спори або їх груп.

Щоб викликати викид полярної нитки, до водної суспензії спор слід додати 4-10%-ий перекис водню, або натиснути на покривне скло тильною стороною препарувальної голки. У водних і тушевих препаратах спори більшості видів мікроспоридій викидають нитку мимовільно. У бульбашках повітря нитки дуже контрастні і їх легко можна виміряти. Нитки добре помітні в темному полі і при фазово-контрастній мікроскопії.

Для вивчення життєвого циклу необхідно виготовити мазки. Після виготовлення мазків і підсихання крупних крапель води вологі мазки фіксують в абсолютному метиловому спирті (метанолі) протягом 1-2 хв. Потім мазки фарбують фарбою Романовського. Чим швидше після фіксації будуть пофарбовані мазки, тим вони контрастніші. Зафарбовані мазки вміщують в 2%-ий розчин фарбника на 2 год або в 0,5%-ий розчин на 12 год і більше. Якщо мазки пофарбувалися погано або знебарвилися в 70°-ному підкисленому HCl спирті, їх промивають в проточній воді і потім повторно фарбують вищеописаним методом.

Родина: *Myxobolidae*

Рід: *Hoferellus*

Hoferellus cyprini

Хвороба: Гоферельоз

Хазяїн: короп

Локалізація: просвіт і клітини епітелію сечових канальців нирок.

Географічне поширення: рибницькі господарства західних областей України.

Макроскопічні дослідження:

Неозброєним оком видно білі цисточки в просвіті сечових канальців нирок.

Мікроскопічні дослідження:

Мікроскопічні дослідження проводять з метою виявлення вегетативних форм і спор паразита.

Методи дослідження:

А) пряме мікроскопічне дослідження мазків епітелію сечових канальців нирок;

Б) мікроскопічні особливості: вегетативні форми – заокруглені або овальні, псевдоподії відсутні, амебоїди які живуть в молодому віці в епітелію сечових канальців, а в дорослому в просвіті останніх; диференціювання на екто- і ендоплазму відсутнє; у зернистій ендоплазмі значна кількість дрібних

ядер; діаметр молодих форм 20-30 мкм; спори пірамідальної форми, з короткими відростками по боках заднього кінця стулок; на кожній стулці є 9-10 повздовжніх смуг; капсули грушеподібні, полярні, невеликі в 3-4 рази менші довжини спор; довжина спор 10-12, ширина 8, довжина бокових відростків 2, довжина полярних капсул 3 мкм.

Рід: *Myxobolus*

Myxobolus cyprinicola

Хвороба: Міксобольоз (злоякісна мікроспоридіозна анемія коропа)

Хазяї: сазан, плітка, краснопірка

Локалізація: зябра, плавці

Географічне поширення: рибницькі господарства західних областей України.

Макроскопічні дослідження:

Пряме дослідження цист на органах.

Мікроскопічні дослідження:

А) пряме дослідження мазків;

Б) мікроскопічні особливості: вегетативні форми-овальні цисти розміром до 5,0-0,3 мм; спори овальні, з вузьким шовковим валиком і короткими грушеподібними полярними капсулами; інтеркапсулярний відросток невеликий; довжина спор 9-13,5, ширина 7-10, товщина 5,6-6,5, довжина полярних капсул 4,2-5,2, їх діаметр 2,5-3, довжина стрекальної нитки 40 мкм.

Myxobolus cyprini

Хвороба: Злоякісна мікроспоридіозна анемія коропа

Хазяї: короп, сазан, сріблястий карась, лин, краснопірка

Локалізація: стінки кишечника, брижа, печінка, нирки, селезінка, м’язи, жовчний міхур.

Географічне поширення: басейн рр. Дністра, Дунаю, ставові господарства України.

Макроскопічні дослідження:

Неозброєним оком помітні цисти на органах.

Мікроскопічні дослідження:

Методи дослідження.

А) Пряме мікроскопічне дослідження мазків виготовлених із уражених тканин органів;

Б) Мікроскопічні особливості: вегетативні форми – дрібні амебоїди неправильної форми, розкидані в сполучній тканині у вигляді дифузної інфільтрації, або овальні цисти до 1 мм; ендоплазма містить жовті світлозаломлюючі тільця; спори овальні, інколи звужені в передній частині, з потовщеним шовним валиком; полярні капсули грушеподібні, зближені, часто перехрещуються; довжина спор 10-16, ширина 8-12, товщина 5,4-6, довжина полярних капсул 5,2-7 мкм;

Масове паразитування мікроспоридії у внутрішніх органах риби викликає злоякісну анемію і навіть загибель із симптомами гострого

малокров'я і водянки черевної порожнини або порушення функцій нирок, гіперемію покровів, куйовдження луски, екзофтальм, загальна водянка тіла.

Myxobolus ellipsoides

Хвороба: Міксобольоз

Хазяї: сазан, товстолобики, білий амур, лин, окунь, лящ, плітка

Локалізація: зябра, зяброві дуги, зяброві кришки, плавці, нирки, печінка, селезінка, серце, брижа, стінка кишечника, жовчного і сечового міхурів, гонади, м'язи, хрящова капсула і рогівка ока

Географічне поширення: басейни рр. Дунаю, Дністра, Дніпра, Південного Бугу.

Макроскопічні дослідження:

Неозброєним оком видно овальні цисти в сполучній тканинні зябрових пелюсток.

Мікроскопічні дослідження:

Методи дослідження:

А) досліджуються водні препарати і мазки тканин;

Б) мікроскопічні особливості: вегетативні форми – білі видовжено-овальні або круглі цисти, розміром 2х1,2 мм; спори подовжено-овальні, інколи звужені на задньому кінці; грушевидні полярні капсули порівняно невеликих розмірів; інтеркапсулярний відросток невеликий і погано помітний; довжина спор 12-17, ширина 7,5-12,6, товщина 5-7,2, довжина полярних капсул 3,5-6, їх діаметр 2,5-4 мкм; поряд з типовими спорами інколи зустрічаються атипові – з 3-8 полярними капсулами або з відростком.

Myxobolus pavlovskii

Хвороба: Міксобольоз товстолобиків

Хазяї: білий і строкатий товстолобики

Локалізація: зяброві пелюстки

Макроскопічні дослідження:

Неозброєним оком видно овальні цисти в сполучній тканинні зябрових пелюсток.

Мікроскопічні дослідження:

Методи дослідження:

А) досліджуються водні препарати і мазки зябрових пелюсток;

Б) мікроскопічні ознаки: вегетативні форми – овальні або лінзоподібні цисти розміром до 1 мм; спори округлі, з широко розставленими нерівними грушеподібними полярними капсулами; амебоїдний зародок невеликий; довжина спор 8,5-10, ширина 9,1-10, товщина 6-7, довжина полярних капсул: більшої 5-6, меншої 2,8-4,2, довжина інтеркапсулярного відростка 2,5-4,2 мкм.

Запитання для самоконтролю:

1. Етіологія та патогенез гоферольозу.
2. Етіологія та патогенез міксобольозу.

3. Етіологія та патогенез міксобольозу товстолобиків, диференційна характеристика.
4. Особливості мікроскопії представників родини *Myxobolidae.*

Практичне заняття № 29

Тема: Паразитичні війчасті інфузорії риб

Мета заняття: вивчення морфологічних особливостей і систематичного складу паразитичних інфузорій. Методи приготування тимчасових і постійних мікропрепаратів. Визначення паразитів.

Матеріали та обладнання: жива риба, інструментарій для паразитологічного розтину риб, мікроскопи, покривні скла із шліфованим краєм, банки для зберігання мазків, формалін, етиловий спирт (50°-ний, 70°-ний, 90°-ний, 96°-ний, абсолютний спирт або суміш рівних частин етилового спирту і ефіру (суміш Нікіфорова), ксилол, 3%-ий розчин залізоамонійних квасців, насичений розчин пікринової кислоти, розчин азур-еозин за Романовським, канадський бальзам, дистильована вода, фіксовані мазки, колекція мікропрепаратів інфузорій, визначник паразитів риб.

Завдання:

1. Вивчити морфологічні особливості і систематику паразитичних інфузорій. Методи приготування тимчасових і постійних мікропрепаратів. Визначення паразитів.

Організація і проведення роботи. Із типу війчастих інфузорій (*Ciliophora*) у риб паразитують представники класів *Peritricha, Spirotricha, Rimastomata, Suctoria*. Розміри інфузорій зазвичай 20-80 мкм, і тільки іхтіофтіріус досягає 1-2 мм, форма тіла інфузорій постійна завдяки наявності оболонки ущільненого шару ектоплазми. В ендоплазмі інфузорій знаходяться два (рідко більше) ядра – крупне соматичне (макронуклеус) і генеративне (мікронуклеус), а також травні і скорочувальні вакуолі. У більшості інфузорій є ротовий отвір – цитостом, який веде в глотку, вистелену війками або обладнану паличковим апаратом (хілодонели). Органелами руху служать війочки, які покривають суцільно або частково поверхню тіла. Розмноження інфузорій відбувається на тілі риби, рідше у воді поділом на половину або багаторазовим поділом надвоє (палінтомія). У деяких видів інфузорій відмічається статевий процес.

Більшість інфузорій при настанні несприятливих умов утворюють цисти спокою, які зберігаються довготривалий час у водоймі. Цисти утворюються і для розмноження або перебудови ядерного апарату. Інфузорії паразитують на поверхні тіла риб, в зябрах, часто зустрічаються в ротовій порожнині і нюхових ямках, сечовому міхурі і досить рідко – в травному тракті. Найбільш поширеними є інфузорії із роду *Chilodonella, Trichodina, Apiosoma, Ichthyophthirius, Ambiphrya*. Рідше зустрічаються *Tetrachymena* і *Balantidium*.

1. ***Збір матеріалу.*** Живу рибу знерухомлюють і вміщують в кювету. Роблять зскребок з поверхні тіла і наносять на покривне або предметне скло (якщо мало слизу, додають 1-2 краплі води).

Виділяють зяброві дуги, роблять зскребок і додають декілька крапель води. Проглядають всі зскребки під мікроскопом: при виявленні іхтіофтіріуса відбирають крупні трофонти, за допомогою піпетки переносять їх на чисте предметне скло, додаючи декілька крапель води.

2. ***Вивчення живих паразитів.*** Зскребок з поверхні тіла проглядають під малим збільшенням мікроскопа (7х8). При виявленні інфузорій зскребок покривають покривним склом. Підраховують кількість інфузорій кожного роду в 25 полях зору мікроскопа з підрахунком середньої величини, вказують мінімальну і максимальну кількість інфузорій в полі зору. Дані підрахунку записують у зошит. Розглядають під малим, а потім великим збільшенням окремі інфузорії і замальовують їх загальний вигляд.

3. ***Виготовлення постійних препаратів.*** Роблять мазки з ділянок тіла, де виявлені інфузорії, поміщають їх в чашку Петрі слизом догори і закривають, щоб попередити забруднення. Сухі мазки готують при виявленні хілодонел і триходин. Виготовлені мазки висушують при кімнатній температурі. В другу чашку Петрі наливають дистильовану воду (¾ об'єму).

Висушені мазки фарбують азотнокислим сріблом. На сухі мазки піпеткою наносять 2%-ий розчин срібла так, щоб на мазку утворилась велика, але нестікаюча з нього крапля. Закривають чашку з мазками темним фотографічним папером і витримують, не зрушуючи чашку, протягом 8-15 хв в залежності від кількості слизу. Через зазначений час знімають папір, наливають в чашку дистильовану воду. Очним пінцетом (краще пластмасовим) беруть за кут покривне скло і промивають його в цій чашці, виймаючи і опускаючи 3-4 рази. Промите скло (мазок) переносять в чашку з чистою дистильованою водою, опускаючи під кутом до води слизом догори. Підкладають під чашку білий аркуш паперу і залишають її на світлі. При яскравому сонячному світлі мазки забарвлюються через 1,5-2 години. Так як ступінь зафарбування (імпрегнації) необхідно контролювати, по закінченню половини зазначеного часу мазки разом з чашкою проглядають під малим збільшенням мікроскопу. До цього часу мазки набувають коричневого забарвлення. Блідо коричневе забарвлення свідчить про недофарбування мазків. Після того, як поверхнева структура інфузорій буде чітко помітна, мазки промивають дистильованою водою, скла мазком догори кладуть на фільтрувальний папір. Надлишки води згори обережно забирають фільтрувальним папером, висушують мазки.

На чисте знежирене предметне скло препарувальною голкою наносять 1-2 краплі канадського бальзаму (в залежності від кількості слизу в мазку). До краю бальзаму обережно наближають мазок і, підтримуючи його препарувальною голкою, опускають до бальзаму. Тильною стороною голки притискають мазок до предметного скла, щоб зменшити шар бальзаму. Бальзам який виступив за край покривного скла, забирають шматочки марлі,

змоченій в кислоті, при цьому мазок слід притримувати, щоб він не зрушився з місця.

На вільний кінець предметного скла наклеюють етикетку з позначенням виду риби, віку, органу або тканини, місця вилову її та інші дані.

Таким способом виготовляють постійні мікропрепарати із інфузорій, знятих із зябер, ротової порожнини, носових ямок та інших ділянок тіла.

Для вивчення ядерного апарату препарати виготовляють за методом викладеним для вивчення джгутиконосців, паразитуючих у риб. За цим методом слід виготовляти препарати іхтіофтіріуса, апіозом, епістилісів, амбифрій, трихофрій.

4. ***Вивчення паразитів.*** Виготовлені препарати або наявні препарати розміщують під мікроскопом і вивчають під малим (7х8) і великим (7х40) збільшенням. Розглядають і замальовують розташування війчастого покриву, видимих органел. У хілодонел підраховують кількість війчастих рядів в обох системах, відмічають кількість посторально розташованих рядів війок, вимірюють довжину і ширину інфузорій. Звертають увагу на розташування дистальних кінців рядів війок обох систем.

Вимірюють зубці прикріплювального диску у триходин за допомогою окуляр-мікрометру.

Під час вивчення мікропрепаратів, пофарбованих залізним гематоксиліном, замальовують розташування ядерного апарату, цитостому та ін.

За допомогою визначника визначають видову належність інфузорій і роблять надпис на етикетці препарату. Вид хілодонел і триходин встановлюють за препаратами, імпрегнованих азотнокислим сріблом, інших інфузорій – за препаратами, зафарбованих гематоксиліном.

Результати роботи оформляють у зошиті.

Родина: *Amphileptidae*

Рід: *Hemiophrys*

Hemiophrys macrostoma (рис. 26)

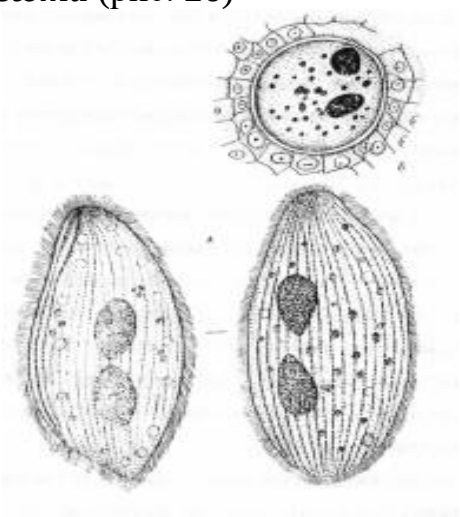


Рис. 26. *Hemiophrys macrostoma* (за Chen, 1955): А – трофонти; Б – циста

Хвороба: Геміофріоз
Хазяї: білий амур, чорний амур, товстолобики
Локалізація: зябра
Географічне поширення: водойми в яких присутні рослиноїдні риби
Макроскопічні дослідження:
Паразити не виявляються неозброєним оком.
Мікроскопічні дослідження:
1. Методи дослідження.
А) досліджується зскребок із зябрових дуг;
Б) готуються постійні препарати;
2. Мікроскопічні особливості: тіло веретеноподібне; розміри живих паразитів 48-71х45-56, фіксованих і пофарбованих 35-65х25-40 мкм; циліатура одностороння, є 17-18 кінет; ротова щілина непропорційно довга, до ¾ довжини тіла; ядра поліплоїдні, 2 макронуклеуса і 1 мікронуклеус; 8-15 дрібних скорочувальних вакуоль, розташованих вздовж обох країв тіла доволі регулярно, в двох рядах; відмічено інцистування в товщі епідерміса.

Hemiophrys disciformis (рис. 27)

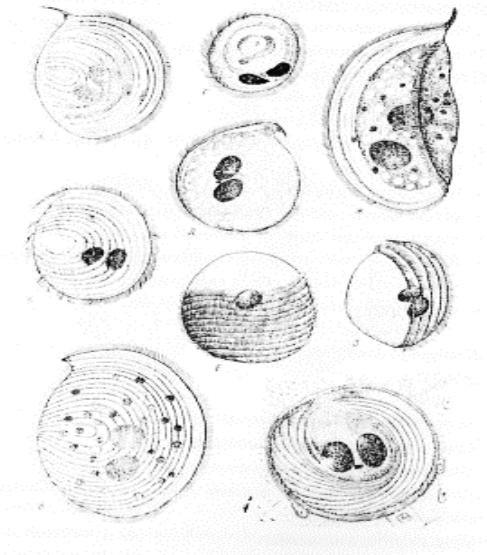


Рис. 27. *Hemiophrys disciformis* (із Chen, 1956)
А-В, Д-З – зовнішній вид трофонтів; Г – особина з проковтнутою триходиною; І – циста

Хвороба: Геміофріоз
Хазяї: товстолобики
Локалізація: зябра (зяброві пелюстки і зяброві дуги)
Географічне поширення: водойми в яких присутній даний вид риб
Макроскопічні дослідження:
Паразити не виявляються неозброєним оком.
Мікроскопічні дослідження:
1. Методи дослідження.
А) досліджується зскребок зябер;

Б) готуються постійні препарати.

2. Мікроскопічні особливості: дрібні форми, величиною 32-46 мкм; діаметр цист 26-40 мкм; тіло коротке і досить широке, листоподібне, майже сферичне (при розгляді з плоскої сторони),здуте з обох сторін, з характерним шипоподібним виростом на передньому полюсі; соматичний кінет аберантний: замість звичайних повздовжніх кінет виявляються концентричні; С-подібні ряди, які сходяться медіально до одного з країв тіла; друга сторона тіла без війок; ротова щілина не виявлена, вірогідно дрібна і вузька, закрита; є 2 круглих, овальних макронуклеуса і дрібний мікронуклеус між ними; 10-15 дрібних скорочувальних вакуоль розсіяних по тілу; у нормі вид зустрічається в інцистованому стані, точніше занурений в тканині зябер, оскільки паразит не утворює власної цисти, оточений оболонкою епітелію, всередині такої камери він активно обертається.

Родина: *Chilodonellidae*

Рід: *Chilodonella*

Chilodonella cyprini (рис. 28)

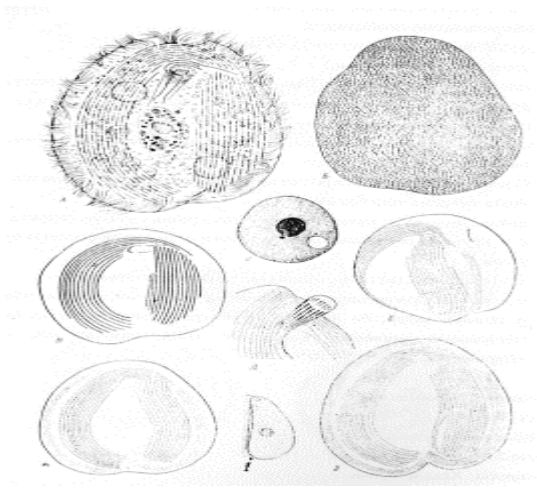


Рис. 28. *Chilodonella cyprini*
А – зовнішній вид трофонта; Б – дорзальний аргиром; В – кінетом; Г-З – циста, ротова зона і кінетом; І – типічний вид хілодонел, вид збоку

Хвороба: Хілодонельоз

Хазяї: практично всі види риб

Локалізація: зябра, шкіра, плавці

Географічне поширення: всі басейни річок України

Макроскопічні дослідження:

Паразити не виявляються неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

А) досліджується зскребок з тіла риби;

Б) готується постійний препарат.

2. Мікроскопічні особливості: тіло типової листоподібної форми, з вирізкою на особливо розширеному задньому кінці; розміри тіла 33-100х24-

60 мкм; тіло покрите повздовжніми рядами війок, число яких на лівій стороні 8-16, а на правій 9-14 рядів; ближче до переднього кінця на черевній стороні розташований округлий цитостом – ротовий отвір, який веде в досить довгу впадину – глотку, стінки якої мають підтримуючий паличковий апарат із 18 паличок; всередині тіла розрізняють яйцеподібне ядро – макронуклеус і дві скорочувальні вакуолі, які розташовані навскісь і пульсують; мікронуклеус дрібний, овальний; розмноження шляхом ділення.

Chilodonelle hexatice (рис. 29)

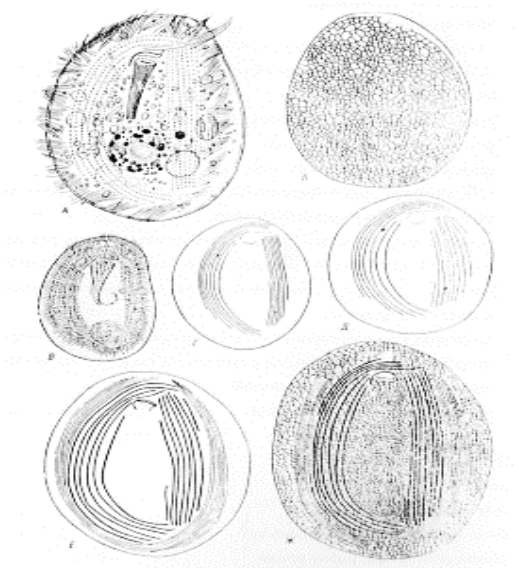


Рис. 29. *Chilodonelle hexatice*
А – зовнішній вигляд трофонта; Б – дорзальний аргиром;
В-Ж – варіанти різних рас виду (мінливість числа і положення кінет)

Хвороба: Хілодонельоз
Хазяї: більшість прісноводних риб
Локалізація: зябра, рідше шкіра
Географічне поширення: всі басейни річок України
Макроскопічні дослідження:
Паразити не виявляються неозброєним оком.
Мікроскопічні дослідження:
1. Методи дослідження:
А) досліджується зскребок із зябер і шкіри;
Б) готується постійний препарат.

2. Мікроскопічні особливості: тіло більш овальне, порівняно з *Chilodonella cyprini,* менш звужене на передньому кінці і настільки різко розширене в задній частині, не має виїмку позаду; латеральні війчасті смуги відносно вузькі, в них нараховується 4-10 кінет справа і зліва (найбільш типовий набір 5-7 справа і 7-9 зліва); глотка озброєна паличковим апаратом, який складається із 16-20 міцних опорних пластинок – немадеом; розміри тіла 30-65х20-50, макронуклеуса 7-14х5-10, мікронуклеуса 1,5-2 мкм; живлення фільтраційне, за допомогою передротових мембран; ротова трубка

використовується також для засмоктування бактерій і мукусу з покривів хазяїв; вид надає перевагу старшим віковим групам риб; часто зустрічається разом з *Ch. cyprini*.

Патогенний для риб, тому що може викликати руйнування покривів і зябер.

Родина: *Balantididae*

Рід: *Balantidium*

Balantidium ctenopharyngodoni (рис. 30)

Хвороба: Балантидіоз

Хазяї: білий амур

Локалізація: кишечник

Географічне поширення: ставові рибні господарства України

Макроскопічні дослідження:

Паразити не виявляються неозброєним оком.

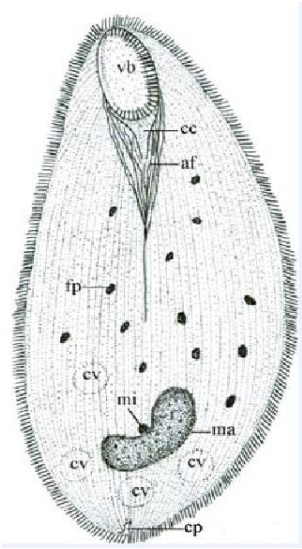


Рис. 30. *Balantidium ctenopharyngodoni*

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

А) досліджується зскребок з кишечника;

Б) виготовляється постійний препарат.

2. Мікроскопічні особливості: тіло овальної або яйцеподібної форми, розширене біля заднього кінця, дещо сплющене дорсовентрально; перистом рівномірної ширини, діагонально направлений і дещо звужується в районі ротового отвору, переходячи в глотку; передня частина глибокої глотки розширена, потім глотка звужується і переходить в глотковий канал; опірні фібрили глотки тягнуться майже до заднього кінця тіла; вздовж правого краю перистома розташований вузький краєвий валик без війок, по лівому краю перистома проходить смуга особливо щільних і довгих війок які являють собою вершини соматичних лівосторонніх кінет; макронуклеус брунькоподібний, незначно витягнутий; дрібний мікронуклеус завжди прилягає до його ввігнутої поверхні; у задньому кінці тіла розташований

анальний отвір – цитопрокт; у середній третині тіла знаходяться 3 скорочувальні вакуолі; розмір тіла після фіксації і фарбування 38-78х22-47 мкм; довжина макронуклеуса 15-21 мкм;

Відмічено утворення цист величиною 21,3-46,2 мкм.

Запитання для самоконтролю:

1. Принцип збору матеріалу з війчастими інфузоріями.
2. Загальні правила роботи при вивченні живих паразитів.
3. Форми виготовлення натуральних препаратів.
4. У чому заключається специфіка встановлення діагнозу при балантидіазі та хілодонельозі.

Практичне заняття № 30

Тема: Вивчення війчастих інфузорій Класу *Ciliata*

Мета заняття: вивчення морфологічних особливостей і систематичного складу війчастих інфузорій Класу *Ciliata*. Методи приготування тимчасових і постійних мікропрепаратів. Визначення паразитів.

Матеріали та обладнання: жива риба, інструментарій для паразитологічного розтину риб, мікроскопи, покривні скла із шліфованим краєм, банки для зберігання мазків, формалін, етиловий спирт (50°-ний, 70°-ний, 90°-ний, 96°-ний, абсолютний спирт або суміш рівних частин етилового спирту і ефіру (суміш Нікіфорова), ксилол, 3%-ий розчин залізоамонійних квасців, насичений розчин пікринової кислоти, розчин азур-еозин за Романовським, канадський бальзам, дистильована вода, фіксовані мазки, колекція мікропрепаратів інфузорій, визначник паразитів риб.

Завдання:

1. Вивчити морфологічні особливості і систематику складу війчастих інфузорій. Методи приготування тимчасових і постійних мікропрепаратів. Визначення паразитів.

Клас: *Ciliata*

Родина: *Ophryoglenidae*

Крупні інфузорії різної форм. Соматична циліатура дуже щільна без тенденції до редукції. Перистом невеликий, з мембраною і 3 мембранелами. Букальна (ротова) порожнина з мембранелами занурена. Їй передує вестибулярна порожнина із зігнутими і наближеними вершинами правосторонніх кінет. Ділення відбувається в цистах, де виникає певне число (інколи досить значне) молодих особин. Вони ексцистуються (виходять з цист), активно плавають в пошуках їжі, ростуть, знову інцистуються, після чого починається новий цикл розвитку.

Рід: *Ichthyophthirius*

Ichthyophthirius multifiliis (рис. 31)

Хвороба: Іхтіофтиріоз

Хазяї: всі прісноводні види риб

Локалізація: під епітелієм шкіри і зябер

Для цього виду, як і для всіх представників роду *Ophryoglenidae* характерний складний життєвий цикл, в процесі якого на різних його етапах помітно змінюється морфологія особин. На рибах паразитує стадія, яку можна назвати трофонтом. Він досягає гігантських для одноклітинних організмів розмірів (0,3-1 мм).

Макроскопічні дослідження:

Трофонт який росте, розташовується між епітеліальним шаром і сполучною тканиною, яка прилягає до нього, утворюючи камеру; ці камери (пустули) можуть містити по декілька трофонтів, але в нормі – одного. Місця утворення пустул – шкіра, зябра, плавці (частіше їх основа); вони знайдені навіть в роті, глотці, рогівці ока. Інколи сотня білих горбиків покриває шкіру хворих риб. Первинна реакція хазяїна на укорінення паразита і руйнування епітелію на його шляху – швидка проліферація клітин і сполучної тканини епідерміса; на зябрах, де мало сполучної тканини, паразит майже цілком оточується сферою із клітин епітелію.

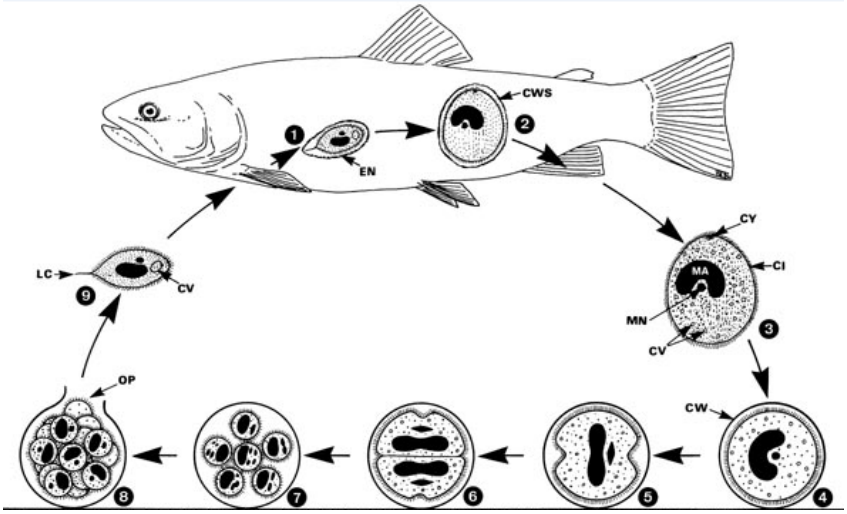


Рис. 31. Цикл розвитку *Ichthyophthirius multifiliis*

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

А) зскребок поверхні тіла;

Б) виготовлення постійного препарату.

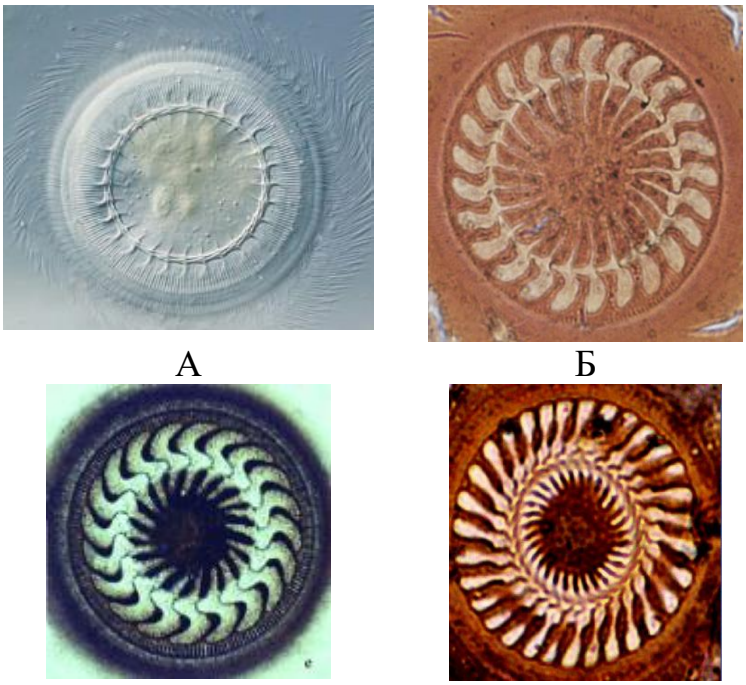
2. Мікроскопічні особливості: тіло округле або овальне, дещо звужене спереду, поверхня його рівномірно покрита рівними рядами війок, які знаходяться у постійному русі; число кінет досягає декілька сотень, всі вони мають меридіональне розташування і сходяться в передньому кінці тіла біля субвентрально розташованого рота – вірніше, біля апікального шва між переднім полюсом і перистомом; перистом округлий і порівняно невеликий, витягнутий, він складається із вестибулума, де в s-подібному полюсі справа зберігаються заходячі сюди від 4 до 6 кінет, глибше, в ротовій порожнинні розташовані 3 мембранели; за цитостомом розташована коротка конусовидна

глотка, цитостом в нативному матеріалі представляє маленьке коло, в сотні разів менше ніж трофоіт; цитоплазма зерниста і більш темна, ніж оточуючий її фон; товстий овальний макронуклеус знаходиться посередині тіла; мікронуклеус лежить у виїмці макронуклеуса.

Родина: *Trichodidae*

Рід: *Trichodina*

Trichodina acuta (рис. 32)



А Б

В Г

Рис. 32. Збудники триходинозу
А – *Trichodina pediculus;* Б – *T. mutabilis;* В – *T. acuta;*
Г – *T. bulbosa*

Хвороба: Триходиноз

Хазяї: короп, сазан, сріблястий карась, лин, білий і чорний амур, товстолобики, райдужна форель, осетрові, судак, щука.

Локалізація: поверхня тіла, плавці, рідше зябра, носові ямки, ротова порожнина.

Географічне поширення: рр. Дунаю, Тиси, Дніпра, водойми Карпат, рибні господарства України.

Макроскопічні дослідження:

Паразити не виявляються неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

А) зскребок з поверхні тіла;

Паразити постійно рухаються або обертаються на одному місці, під великим збільшенням помітно мерехтіння війок, розташованих по периферії тіла. Збоку інфузорії нагадують перевернутий дзвін.

Б) виготовлення постійного препарату;

2. Мікроскопічні особливості: форма тіла дископодібна; діаметр тіла 57-67 мкм; діаметр зубців 28-36 мкм; число зубців у вінчика 19-25; довжина зовнішніх відростків 5,2 мкм; довжина внутрішніх відростків 6,3 мкм.

Trichodina mutobilis

Хвороба: Триходиноз

Хазяї: короп, сазан, білий амур, товстолобики, лин, плітка, сріблястий карась, лящ, судак, окунь.

Локалізація: поверхня тіла, зябра, носові ямки, ротова порожнина.

Географічне поширення: басейни рр. Дунаю, Дніпра, рибні господарства України.

Макроскопічні дослідження:

Паразити не виявляються неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

А) зскребок з поверхні тіла;

Б) виготовлення постійного препарату.

2. Мікроскопічні особливості: форма тіла дископодібна; діаметр тіла 52-72 мкм; діаметр вінчика зубців 39-54 мкм; число зубчиків у вінчику 23-28; довжина зовнішніх відростків 6,5-9,1 мкм; довжина внутрішніх відростків 7,8-10,4 мкм.

Trichodina pediculus

Хвороба: Триходиноз

Хазяї: білий і чорний амур, білий і строкатий товстолобики, короп, сазан, сріблястий карась, лящ, плітка, краснопірка, окунь, щука, судак, молодь осетра, райдужна форель, пуголовки жаб.

Локалізація: поверхня тіла, плавці, зябра, носові ямки, ротова порожнина.

Географічне поширення: басейни рр. Дунаю, Дніпра, рибні господарства України.

Макроскопічні дослідження:

Паразити не виявляються неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

А) зскребок з поверхні тіла;

Б) виготовлення постійного препарату;

2. Мікроскопічні особливості: форма тіла блюдцеподібна; діаметр тіла 62-75 мкм; діаметр вінчика зубців 34-55 мкм; число зубчиків у вінчику 27-33; довжина внутрішніх відростків 7,8 мкм.

Рід: *Epizootica*

Trichodinella epizootica

Хвороба: Триходиноз

Хазяї: короп, сазан, сріблястий карась, лин, гібрид коропа з амурським сазаном, щука, судак, райдужна і струмкова форель, осетрові, річкова камбала, білий амур, білий і строкатий товстолобики, в’юн.

Локалізація: поверхня тіла (переважно у молоді), плавці, зябра, носові ямки.

Географічне поширення: басейни рр. Дунаю, Дніпра, рибні господарства України.

Макроскопічні дослідження:

Паразити не виявляються неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

А) зскребок з поверхні тіла;

Б) виготовлення постійного препарату;

2. Мікроскопічні особливості: форма тіла дископодібна або сплющена; зовнішні відростки зубців пластинчасті, видовжені; макронуклеус підковоподібний; мікронуклеус невеликий, овальний, розташований збоку від макронуклеуса; діаметр тіла 18-51, прикріплювального диска 14-35 мкм; зовнішній діаметр вінчика 10-31, внутрішній 7-24 мкм; у вінчику 18-30 зубців.

Рід: *Tripartiella*

Tripartiella bulbosa

Хвороба: Триходиноз

Хазяї: білий амур, товстолобики, особливо молодь рослиноїдних видів риб, молодь лососевих, плітка, пуголовки.

Локалізація: зябра, рідше поверхня тіла, носові ямки.

Географічне поширення: басейни рр. Дунаю, Дніпра, рибні господарства України.

Макроскопічні дослідження:

Паразити не виявляються неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

А) зскребок з поверхні тіла;

Б) виготовлення постійного препарату;

2. Мікроскопічні особливості: форма тіла мінлива: від блюдцеподібної до грушоподібної; діаметр тіла 57-67 мкм; діаметр вінчика зубців 28-39 мкм; число зубців у вінчику 13-27; довжина зовнішніх відростків 1,5-3,9 мкм.

Родина: *Epistylidae*

Рід: *Apiosoma*

Apiosoma piscicolum (рис. 33)

Хвороба: Апіозомоз

Хазяї: короп, сазан, сріблястий карась, лящ, окунь, язь, форель струмкова і райдужна, плітка.

Локалізація: поверхня тіла, плавці, зябра.

Географічне поширення: водойми України.

Макроскопічні дослідження:

Паразити не виявляються неозброєним оком.

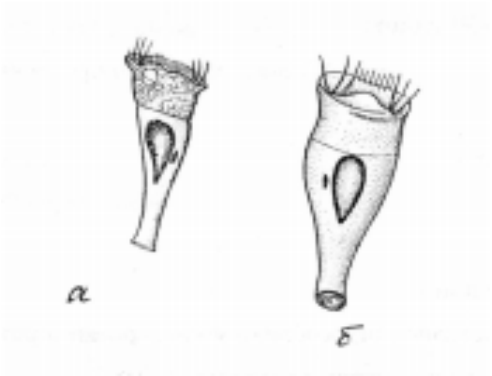


Рис. 33. Збудники апіозомозу: А – *Apiosoma piscicolum var. typica*; Б – *Apiosoma piscicolum var. magna* (за Чернишова, 1977)

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

А) зскребок з поверхні тіла;

Б) виготовлення постійного препарату;

2. Мікроскопічні особливості: крупна одиночна інфузорія довжиною 61-93 мкм і шириною 22-36 мкм; тіло витягнуте, помітно звужується до місця прикріплювання; передній кінець розширений, має вінчик із декількох десятків крупних війок; макронуклеус крупний, довжина до 29 мкм, має форму трикутника, гострою вершиною повернутий до основи; мікронуклеус овальної форми, довжиною до 7 мкм.

Запитання для самоконтролю:

1. Принцип збору матеріалу з війчастими інфузоріями.
2. Загальні правила роботи при вивченні живих паразитів.
3. Форми виготовлення натуральних препаратів.
4. У чому заключається специфіка встановлення діагнозу при іхтіофтіріозі, триходинозі і хілодонельозі.

Практичне заняття № 31

Тема: Кокцидії риб (хвороби риб, що викликаються споровиками)

Мета заняття: засвоєння методів збору і фіксації паразитів, виготовлення тимчасових і постійних мікропрепаратів. Вивчення морфологічних особливостей і систематичного складу кокцидій, які паразитують у риб.

Матеріали та обладнання: жива риба, інструментарій для повного паразитологічного розтину риб, предметні і покривні скельця, матеріальні банки для зберігання мазків, антикоагулянти для крові, метиловий спирт, формалін, рідина Шаудіна, мікроскоп, готовий розчин Май-Грюнвальда, фарба Романовського, забуферений розчин дистильованої води, визначники паразитів риб.

Завдання:

1. Засвоїти методику збору і фіксації паразитів, виготовлення тимчасових і постійних мікропрепаратів. Вивчення морфологічних особливостей і систематичного складу кокцидій, які паразитують у риб.

Організація і проведення роботи. Із типу споровиків у риб паразитують кокцидії (роду *Eimeria*). Дорослі вегетативні стадії (трофозоїти) кокцидій мають овальну форму, одне ядро. Цисти кокцидій мають округлу форму, оточені оболонкою, діаметром 10-15 мкм. Всередині цисти нараховують 4 спори, в кожній із яких знаходиться по 2 спорозоїти. Кокцидії паразитують всередині епітеліальних клітин кишечника, печінки, нирок, статевих залоз, плавального міхура та інших органах. Систематика кокцидій заснована на розмірах і будові цисти.

Життєвий цикл кокцидій протікає без зміни живителя, але з чергуванням поколінь: безстатевого (мерогонія) і статевого (гаметогонія). Із проковтнутої рибою цисти виходять спорозоїти, котрі укорінюються в клітини епітелію кишечника, ростуть в них, перетворюються в меронти. Ядро меронта ділиться, він стає багатоядерним і розпадається на дрібні довгасті клітини – мерозоїти. Мерозоїти укорінюються в нові епітеліальні клітини, дають початок другому поколінню меронтів. Процес безстатевого розмноження неодноразово повторюється. Деяка частина мерозоїтів, що укорінились в клітину, не утворює меронта, а дає початок статевим клітинам: жіночим – макрогаметам і чоловічим мікрогаметам (подовженим клітинам з двома джгутиками на передньому кінці). Мікрогамети рухливі: вони знаходять макрогамету, зливаються з нею і утворюють зиготу, яка обростає щільною оболонкою і перетворюється в цисту. Ядро цисти ділиться на чотири частини, з них утворюються спори і спорозоїти. Процес спорогонії кокцидій риб на відміну від паразитів наземних тварин відбувається в хазяїні. У кишечнику риби разом з екскрементами цисти виводяться назовні і тривалий час знаходяться в стані спокою у зовнішньому середовищі, поки не будуть проковтнуті рибою.

У риб паразитують кокцидії тільки одного роду – *Eimeria*.

Порядок проведення роботи:

Рибу знерухомлюють. Беруть кров і на знежиреному предметному склі готують мазок (для запобігання забруднення його накривають чистою чашкою Петрі). Розтинають рибу. За допомогою пінцета відокремлюють селезінку від нирки. Скальпелем розрізають селезінку на шматочки. Один із них беруть пінцетом, доторкаються до чистого фільтрувального паперу для видалення зайвої крові і роблять відбитки, доторкаючись шматочком селезінки до предметного скла.

Видаляють кишечник, відокремлюють від інших внутрішніх органів, потім проводять його розтин і вміст поміщають на предметне скло або скло для розтину, додають декілька крапель води. Роблять зскребок із внутрішньої стінки кишечника, наносять його на предметне скло, додають 1-2 краплі води

і накривають покривним склом. При виявленні цист кокцидій їх виділяють за допомогою препарувальних голок і піпетки, вміщують на предметне скло. Препарувальними голками руйнують оболонку, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом. Замальовують будову цисти і спор.

Цисти кокцидій не фарбують, тому що метод приготування постійних препаратів не розроблений. Тому вивчення і замальовування цист проводять на нативному матеріалі.

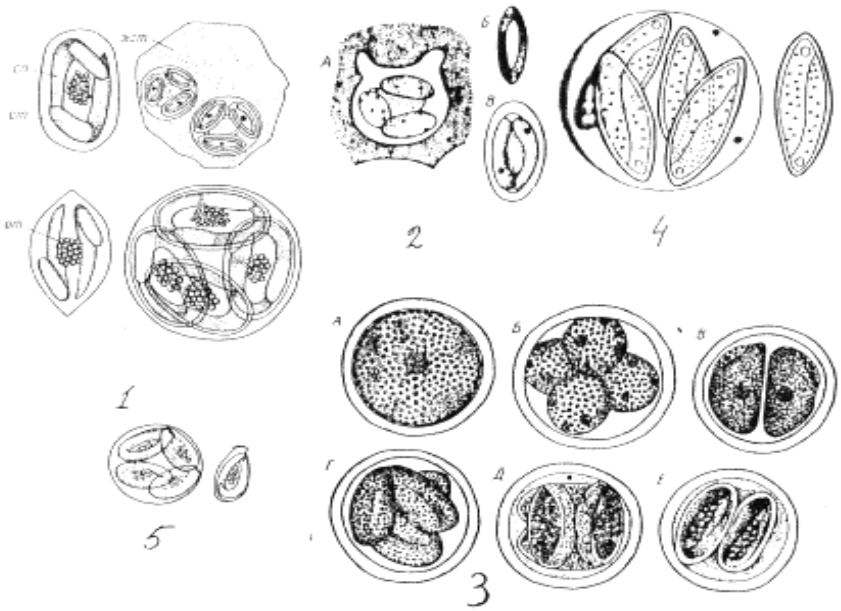


Рис. 34. Збудники кокцидіозів риб
1 – *Eimeria carpelli* (за Хейсин, Заіка, 1959): сп – спорозоіти; ст – світлозаломлююче тіло спорозоіта; от – залишкове тіло спори; жт – жовте тіло; 2 – *E. subepithelialis*: А-Б – споробласти в ооцисті і спороциста (за Schaperclaus, 1954), В – спороцита (за Stankovitch, 1921); 3 – *E. sinensis* (за Chen, 1956): А-Д – ооцисти на різних етапах розвитку, Е – ооциста із зрілими спорами; 4 – *E. hypophtalmichthys* (за Догель, Ахмеров, 1959); 5 – *E. truttae* (за Stankovitch, 1921)

Родина: *Eimeridiae*

Рід: *Eimeria*

Паразитує в епітеліальних клітинах кишечника, печінки, нирок та інших органах риб. Характеризується округлою або овальною цистою, всередині якої розміщені 4 спороцисти з 2 спорозоїтами в кожній з них.

Eimeria carpelli

Хвороба: Кокцидіозний ентерит коропа

Хазяїн: короп

Локалізація: стінки кишечника і жовчного міхура.

Географічне поширення: басейни великих річок України

Макроскопічне дослідження:

Паразит не виявляється неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження.

А) мікроскопічне дослідження вмісту кишечника;

Б) мікроскопічні ознаки: циста сферична, тонкостінна, без залишкового тіла; діаметр 8,5-14 мкм; спороцисти овальні, тонкостінні, повздовжня лінія не помітна: вона досить щільно ускладнена в цисті, розміром 7-8,5х4-5 мкм; всередині цисти 2 червоподібних спорозоїта, незначно розширених на одному кінці, де знаходиться крупне світлозаломлююче тільце; невелике, зернисте, округле залишкове тіло лежить між спорозоїтами, розміром 2-2,5х2 мкм;

Сильне зараження цим паразитом викликає захворювання – кокцидіозний ентерит. В порожнинах (внаслідок руйнування епітеліальних клітин) із залишків клітин, коагульованої крові і внутрішньоклітинної рідини утворюються так звані жовті тіла, які у великій кількості зустрічаються в кишечнику хворих риб. У жовтих тілах знаходять часто цисти, які потім випадають в просвіт кишечника. Меронти – подовжено-овальні, діаметр тіла 6-7 мкм. Вони локалізуються в епітеліальних клітинах кишечника, який повністю руйнується. Вже 22-23-денні мальки можуть бути заражені цим паразитом. Препатентний період триває 12-19 діб, але при високій температурі (вище 19°С) скорочується до 7 діб. При слабкій поодинокій інвазії риба самоочищується.

Цей вид викликає при масовому зараженні підвищений відхід однорічок коропа до кінця зимівлі. При цьому спостерігаються ознаки інтоксикації, куйовдження луски, екзофтальм, ексудат в порожнинні тіла.

Eimeria subepithelialis

Хвороба: Вузликовий кокцидіоз коропа

Хазяїн: короп

Локалізація: субепітеліальна і сполучна тканина кишечника (переважно у передній і середній кишці)

Географічне поширення: ставові господарства України

Макроскопічне дослідження:

Одноклітинний організм не виявляється неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження.

А) мікроскопічне дослідження вмісту кишечника і зскребків стінки кишечника;

Б) мікроскопічні ознаки: циста сферична, тонкостінна, без залишкового тіла, діаметром 14,5-17 мкм; спороцисти подовжено-овальні, довжиною 10-12,5 мкм; в спороцисті 2 вузьких спорозоїта і невелике залишкове тільце.

Розвиток початкових стадій і безстатеве розмноження відбувається в епітеліальних клітинах; спорогонія в субепітеліальній тканині, де утворюються своєрідні сполучнотканинні, цистоподібні вузлики.

Eimeria sinensis

Хвороба: Кокцидіозний ентерит товстолобиків

Хазяїн: товстолобики

Локалізація: вміст кишечнику

Географічне поширення: ставові господарства України

Макроскопічне дослідження:

Паразит не виявляється неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження.

А) мікроскопічне дослідження вмісту кишечника;

Б) мікроскопічні ознаки: цисти тонкостінні, округлі, з прозорою оболонкою діаметром 9,2-10,7 мкм, є невеличке полярне включення; спори овальні довжиною 7-8 мкм, розташовані хрест-навхрест, всередині спори по 2 спорозоїта і велике крупнозернисте залишкове тіло; розвиток такий як у *E. carpelli.*

Eimeria hypophtalmichthys

Хвороба: Кокцидіозний ентерит

Хазяїн: товстолобики

Локалізація: нирки

Географічне поширення: ставові господарства України

Макроскопічне дослідження:

Паразит не виявляється неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження.

А) дослідження відбитка нирок;

Б) мікроскопічні ознаки: циста сферична, тонкостінна; діаметр 24 мкм, з невеликим залишковим тілом; спороцисти веретеноподібні, розміром 18х6 мкм; всередині цисти 2 довгих спорозоїта (16-17х2,5 мкм) із світло-заломлюючим тільцем;

Про наявність або відсутність залишкового тіла в спороцисті інформація відсутня.

Eimeria truttae

Хвороба: Кокцидіозний ентерит

Хазяїн: струмкова форель

Локалізація: стінки кишечника (пілоричні вирости)

Географічне поширення: випадків захворювання на території України не зафіксовано

Макроскопічне дослідження:

Одноклітинні організми не виявляються неозброєним оком.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження.

А) дослідження вмісту кишечника;

Б) мікроскопічні ознаки: ооциста сферична, без залишкового тіла; розміром 10-12 мкм; спороцисти тонкостінні, веретеноподібні, розміром приблизно 7-8,5х5-5,1 мкм; всередині спори 2 спорозоіта і округле дрібнозернисте залишкове тіло; споруляція проходить в тілі хазяїна.

Запитання для самоконтролю:

1. Значення іхтіопатологічних досліджень при еймеріозі.

2. Загальні правила встановлення діагнозу при кокцидіозному ентериті та кокцидіозному ентериті товстолобиків.
3. Дифференцйна характеристика при коцидіозах.

Практичне заняття № 32

Тема: Методи визначення збудників гельмінтозів риб

Мета заняття: **Розглянути та опрацювати методи визначення збудників гельмінтозів риб**

Матеріали та обладнання: матеріали експериментально-експозиційної лабораторії кафедри та лабораторії комплексних іхтіопатологічних досліджень.

Завдання:

1. Навчитися робити збір матеріалу, його фіксацію та вивчення видової приналежності.

Гельмінтози викликають паразитичні черви, які відносяться до типів плоских (*Plathelminthes*), колючоголових або скреблянок (*Acanthocephales*) і первиннопорожнинних, або круглих (*Nemathelminthes*). Як тимчасові паразити у риб зустрічаються п'явки, які відносяться до типу кільчастих червів (*Annelida*).

Плоскі черви, які паразитують у риб, включають три основні класи: Моногеней (*Monogenoidea*), трематод (*Trematoda*) і стьожаків (*Cestoda*). До самостійного класу також виділені *Aspidogastrida* і *Amphilinida*.

У них витягнуте у довжину тіло листовидної стрічкоподібної форми, сплющене в дорсовентральному напрямку, покрите кутикулою. Органи прикріплення різноманітні: у вигляді хітиноїдних гачків, клапанів присосок, ботридій та інше. Травна система є (моногенеї, трематоди) або відсутня (цестоди). Нервова система представлена головними гангліями і поздовжніми стовбурами, з'єднаними кільцевими перемичками. Органи виділення протонефридії. Статева система гермафродитна. Розвиток прямий у моногеней, складніший зі зміною хазяїв у трематод і цестод. Моногенеї паразитують в основному на зябрових пелюстках і поверхні тіла, трематоди і цестоди – у внутрішніх органах, найчастіше в кишечнику.

Колючоголові черви або скреблянки, мають циліндричне тіло, покрите тонкою кутикулою, яке складаються з тулуба і втяжного хоботка з хітиноїдними гачками. Травна система відсутня, нервова – у вигляді ганглія, розташованого у хоботовій піхві і відходячих від нього нервових стовбурів. Скреблянки роздільностатеві. Розвиток складний з участю проміжних хазяїв, в тілі яких відбувається розвиток личинок. Паразитують скреблянки в основному в кишечнику багатьох видів прісноводних і морських риб, інколи в порожнині тіла, мускулатурі.

До первиннопорожнинних відноситься великий клас круглих червів – *Nematoda*. Вони мають довге нитковидне або веретеновидне тіло, покрите щільною кутикулою з шипиками, стрічками, сосочками, горбиками і т.д. На

головному кінці розташований ротовий отвір, оточений губами, на яких знаходяться органи відчуття – сосочки. Травна система є. Нервова система представлена біляглотковим кільцем і стовбурами, що відходять від нього. Нематоди переважно роздільностатеві, яйцекладні або живородні. Розвиток нематод в основному відбувається зі зміною живителів.

Гельмінтози доволі широко поширені серед культивованих риб. Не всі їх збудники в рівній мірі є патогенними, однак деякі з них часто накопичуються в рибницьких ставах у великій кількості і викликають спалахи хвороби.

Клас *Monogenea* (рис.35)

Моногенеї – плоскі паразитичні черви, мають витягнуте, сплющене в спинно-черевному напрямку тіло, довжиною 0,15-20,0 мм. Форма тіла найчастіше сигаро видна або веретеновидна, інколи – листовидна, більш-менш плоска. Передній кінець має 2-6 лопатей, на яких відкриваються протоки головних залоз, рідше – однолопатевий або забезпечений присоском. Інколи лопаті мають ямки або перетворюються в хітиноподібні залозисті валики. Задній, більш-менш відокремлений від тіла кінець має вигляд прикріплювального диска, який представлений різного типу хітиноїдними (кератиновими) утвореннями – гачками, крайовими і серединними, з'єднуючими пластинками, присосками, шипами, виростами, додатковими дисками, інколи весь диск перетворюється в потужну присоску. Число і форма гачків, морфологія хітиноїдних і мускульних прикріплю вальних утворень є важливими систематичними ознаками.

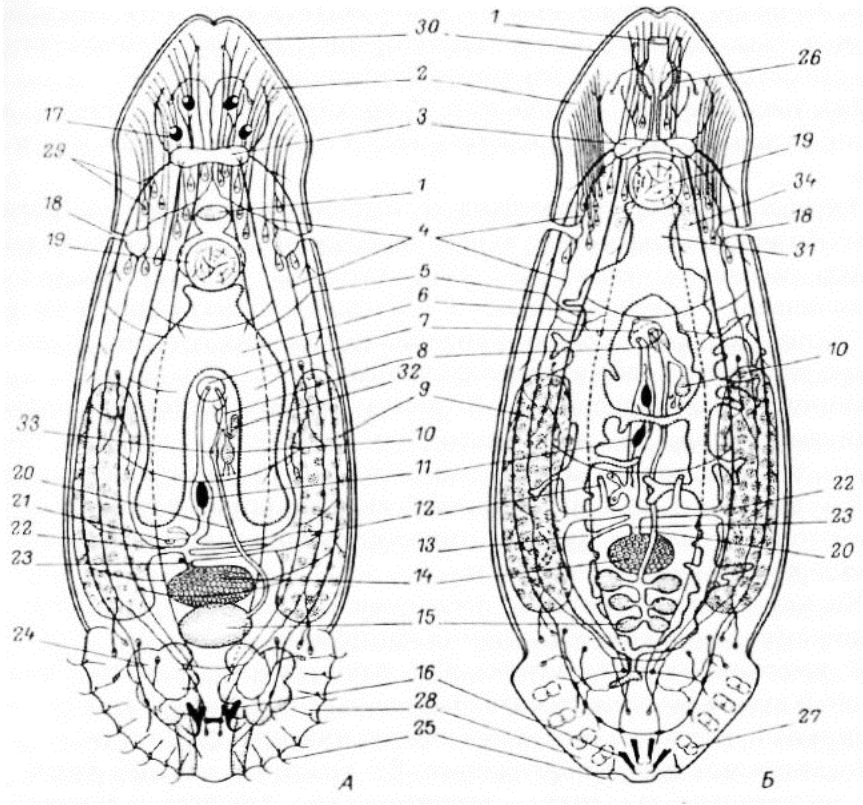


Рис. 35. Будова моногеней (Гусєв, 1962)
А – нижчі (*polyonhoinea*); Б – вищі (*oligohoinea*). 1 – ротовий отвір,

2 – протоки залоз головного кінця, 3 – головні ганглії, 4 – видільна система, 5 – нервові стовбури з комісурами, 6 – кишечник, 7 – статевий атріум, 8 – копулятивний орган, 9 – жовточники, 10 – резервуар простатичних залоз, 11 – матка (оотип) з яйцями, 12 – вагінальні протоки, 13 – кишково-статевий канал, 14 – яєчник, 15 – сім'яники, 16 – середні гачки (anchors), прикріплювального диску, 17 – очі, 18 – отвір видільної системи, 19 – глотка, 20 – сім'япровід, 21 – шкарлупові залози, 22 – жовчні протоки, 23 – яйцепровід, 24 – залози заднього кінця тіла і прикріплювального диску, 25 – крайові гачки прикріплю вального диску (hooks), 26 – присоски ротової лійки, 27 – прикріплювальні клапани (clamps), 28 – прикріплювальний диск (hapfor), 29 – головні залози, 30 – головні лопаті, 31 – стравохід, 32 – резервуар залози гранульованого секрету, 33 – сім'яний пухирець

Порядок проведення роботи наступний:

1. ***Збір матеріалу.*** Живу рибу знерухомлюють і поміщають у кювету. Відрізають плавці і кладуть в чашки Петрі з чистою водою. Роблять скребок з поверхні тіла, переносять його в краплю води не предметне скло, додають 2-3 краплі чистої води, відділяють зяброві дуги, розміщають їх на склі для розтину і змочують водою. Проглядають під мікроскопом плавці. Скребок з поверхні тіла проглядають під мікроскопом (збільшення 8х12,5), підраховують кількість паразитів. За допомогою препарувальних голок і піпетки відбирають виявлених червів, переносять на предметне скло в кроплю чистої води, звільняють від залишків тканини і слизу. Скло з відібраними гельмінтами залишають на столі, прикривши чашкою Петрі. Зяброві дуги проглядають під мікроскопом, виділяють знайдених паразитів, підраховують їх кількість і поміщають на предметне скло в краплю чистої води, додають розчин аміаку, закривають чашкою Петрі.

Плавці розглядають під мікроскопом, додавши чистої води. Відбирають гельмінтів, як вказано вище. Далі роблять скребок з ротової порожнини і носових ямок, підраховують і відбирають паразитів, як вказано в п.п 3 і 4.

2. Вивчення живих паразитів. Відділеного і відмитого від слизу паразита поміщають в краплю води на предметне скло. Накривають покривним склом і поміщають під об'єктив мікроскопу, розглядаючи спочатку під малим, а потім під великим збільшенням. Розглядають і замальовують загальний вигляд, наявність пігментних вічок, будову травної і статевої систем, прикріплювальних органів і копулятивного апарата.

3. Приготування незафарбованих препаратів. На скло, де були поміщенні паразити, видалені з поверхні тіла, додають краплю 1% розчину аміаку, шматочком фільтрувального паперу видаляють воду, поміщають під об'єктив мікроскопу, розправляють гельмінтів. Гліцерин-желатин (на кінчику скальпеля) нагрівають над полум'ям спиртівки до розправлення суміші, наносять краплю на скло з паразитами. До краю краплі обережно наближають чисте покривне скло і поволі, підтримуючи його

препарувальною голкою, опускають на краплю гліцерин-желатину, стежачи за тим, щоб під склом не залишилось бульбашок повітря.

Під об'єктивом мікроскопа обережно тильною стороною препарувальної голки притискають покривне скло, щоб зменшити шар гліцерин-желатину, і розплющують гельмінтів. В такому положенні добре видно їх хітиноїдне озброєння, за будовою якого ведеться визначення гельмінта.

Для довготривалого зберігання препарата по краях покривного скла за допомогою тонкої дерев'яної палички (сірника) наносять шар спеціальної замазки, який складається з воску і каніфолі, що запобігає висиханню препарату.

На один з кінців предметного скла наклеюють етикетку з вказівкою хазяїна, дати, органа або тканини, місця вилову. Таким же способом виготовляють постійні препарати з паразитів, видалених із зябер, плавців, носових ямок і ротової порожнини.

4. Визначення паразитів. Виготовленні препарати розміщують під мікроскопом і вивчають під малим (7х9) і великим (7х40, 10х90) збільшенням. Уважно розглядають будову прикріплювального диску і озброєння копулятивного органу. Замальовують серединні гачки і копулятивний орган при збільшенні 7х10 і 7х40. Вимірюють середні гачки за допомогою окуляр-мікрометра.

За допомогою визначника визначають вид паразита і роблять відповідний напис на етикетці препарату. Результати роботи оформлюють в зошиті для лабораторних записів. Проглядають і замальовують готові препарати з колекції.

Родина *Dactylogyridae*

Рід *Dactylogyrus*

Dactylogyrus vastator (рис. 36)

Хвороба: дактилогіроз.

Хазяї: короп, сазан, сріблястий і золотистий карасі.

Локалізація: на кінцях зябрових пелюсток.

Географічне поширення: ставові господарства України, Білорусі, РФ, західної Європи та інших країн.

Макроскопічні дослідження:

Паразит неозброєним оком не виявляється.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) мікроскопічне дослідження скребка з зябрових пелюсток;

б) мікроскопічні ознаки: крупний гельмінт довжиною до 1,25 мм, шириною 0,25 мм; довжина крайових гачків 0,025-0,045 мм, найбільш короткі з них гачки 2-ї пари; довжина середніх гачків: дорсоапікальна – 0,049-0,063; внутрішнього відростку – 0,016-0,025; зовнішнього – 0,009-0,015; леза – 0,0033-0,005 мм; розміри з'єднувальної пластинки – 0,005-0,009 (посередині); 0,006-0,012 (біля кінців) – 0,035-0,044 мм; загальна довжина

копулятивного органу – 0,040-0,069; власне трубки – 0,025-0,046 при діаметрі 0,003-0,008 мм.

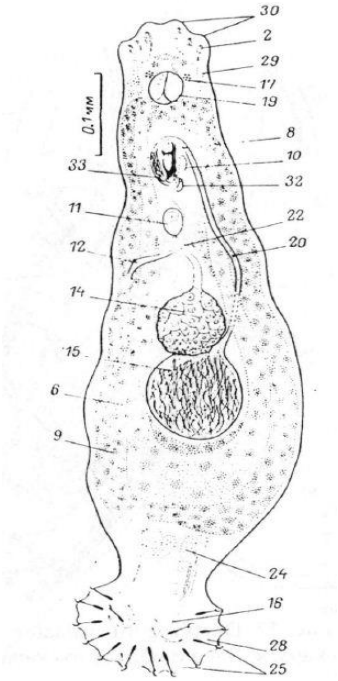


Рис. 36. Схема будови *Dactylogirus vastator*, з черевної сторони (Биховський, 1933)

Родина: *Gyrodactylidae*

Рід: *Gyrodactylus*

Gyrodactylus cyprini

Хвороба: гіродактильоз

Хазяїн: короп.

Локалізація: шкіра, зябра, плавці.

Географічне поширення: широко розповсюджений вид у водоймах Європи.

Макроскопічні дослідження:

Паразит неозброєним оком не виявляється.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) мікроскопічне дослідження скребка з поверхні тіла та зябрових дуг;

б) мікроскопічні ознаки: довжина тіла – 0,5-0,9 мм; довжина крайових гачків: загальна – 0,025-0,037 мм; власне гачка – 0,005-0,007 мм; довжина середніх гачків: загальна – 0,088-0,140 мм; основної частини – 0,068-0,084 мм; внутрішнього відростка – 0,056-0,060 мм; вістря – 0,034-0,053 мм; розміри черевної з'єднувальної пластинки – 0,008-0,017+0,029-0,038 мм; довжина її бороди – 0,028-0,044 мм; розміри спинної з'єднувальної пластинки – 0,004-0,007+0,013-0,021 мм.

Gyrodactylus sprostone

Хвороба: гіродактильоз.

Хазяїн: короп, сріблястий карась та інші коропові риби.

Локалізація: зябра.

Географічне поширення: широко розповсюджений вид, вірогідно, супутній хазяїнам.

Макроскопічні дослідження:

Паразит неозброєним оком не виявляється.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) мікроскопічне дослідження скребка з зябрових дуг;

б) мікроскопічні ознаки: довжина тіла – 0,2-0,4 мм; довжина крайових гачків: загальна – 0,019-0,028 мм; власне гачка – 0,004-0,006 мм; довжина середніх гачків: загальна – 0,041-0,062 мм; основної частини – 0,035-0,045 мм; внутрішнього відростка – 0,013-0,024 мм; вістря – 0,017-0,025 мм; розміри черевної з'єднувальної пластинки – 0,004-0,007+0,013-0,026 мм; довжина її бороди – 0,015-0,018 мм; розміри спинної з'єднувальної пластинки – 0,001-0,002+0,009-0,02 мм.

Gyrodactylus stankovici

Хвороба: гіродактильоз.

Хазяїн: сазан, короп.

Локалізація: зябра, плавці, шкіра і носові порожнини.

Географічне поширення: широко розповсюджений вид, супутній хазяїнам.

Макроскопічні дослідження:

Паразит неозброєним оком не виявляється.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) мікроскопічне дослідження скребка з тіла та зябрових дуг;

б) мікроскопічні ознаки: довжина тіла – 0,3-0,4 мм; довжина крайових гачків: загальна – 0,023-0,031 мм; власне гачка – 0,005-0,006 мм; довжина середніх гачків: загальна – 0,050-0,063 мм; основної частини – 0,035-0,046 мм; внутрішнього відростка – 0,016-0,023 мм; вістря – 0,023-0,033 мм; розміри черевної з'єднувальної пластинки – 0,006-0,008+0,020-0,025 мм; довжина її бороди – 0,012-0,018 мм; розміри спинної з'єднувальної пластинки – 0,002+0,013-0,019 мм.

Gyrodactylus ctenopharyngodonis

Хвороба: гіродактильоз.

Хазяїн: білий амур.

Локалізація: шкіра.

Географічне поширення: рибні господарства України, які вирощують білого амура.

Макроскопічні дослідження:

Паразит неозброєним оком не виявляється.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) мікроскопічне дослідження скребка з тіла;

б) мікроскопічні ознаки: довжина тіла – до 0,57 мм; довжина крайових гачків (загальна) – 0,025-0,030 мм; довжина середніх гачків (загальна) – 0,050-0,063 мм; розміри черевної з'єднувальної пластинки – 0,006-0,008+0,025-0,028 мм; довжина її бороди – 0,018 мм; розміри спинної з'єднувальної пластинки – 0,003+0,004-0,020 мм.

Викликає загибель мальків.

Родина: *Diplozoidae*

Рід: *Diplozoon*

Задня частина тіла ділиться на три великі ділянки. Передня має на вентральній стороні не чисельні складки чашовидної форми, задня несе прикріплювальний клапан серединні гачки. Кишка в середній ділянці задньої частини тіла утворює бокові вирости. Гонади в передній ділянці задньої частини тіла. Вивідні отвори матки на рівні передньої і задньої частини тіла. Сім'яники поодинокі лопатні. Яйця з філаментами і без додаткових виростів на протилежному полюсі.

Diplozoon paradoxum

Хвороба: диплозоноз.

Хазяїн: короп, лящ, плитка, тарані, рибець, минь, окунь.

Локалізація: зябра.

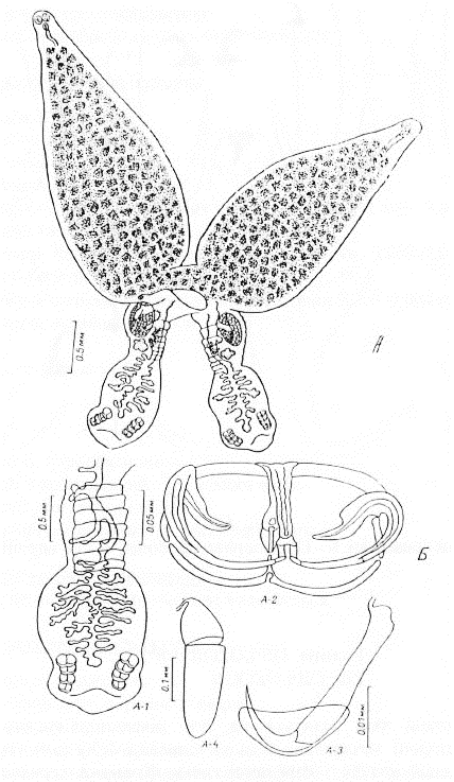


Рис. 37. А – Загальний вигляд; Б – схематична будова: 1 – задня частина тіла, 2 – прикріплювальний клапан, 3 – середні гачки, 4 – яйце

Географічне поширення: річки басейнів Чорного та Балтійського морів, знаходять у коропа в рибницьких господарствах.

<u>Макроскопічні дослідження:</u>

Паразит неозброєним оком не виявляється.

<u>Мікроскопічні дослідження:</u>

1. Методи дослідження:

а) мікроскопічне дослідження скребка зябрових дуг;

б) мікроскопічні ознаки: довжина тіла – 2,2-10 мм; передня частина – 1,5-6,04 мм; задня – 0,073 мм; передня ділянка задньої частини тіла має 4-8 складок; розмір клапанів: I – 0,06-0,12+0,08-0,19 мм; II – 0,05-0,12+0,11-0,23 мм; III – 0,05-0,13+0,13-0,26 мм; IV – 0,06-0,14+0,13-0,26 мм; передній кінець середньої пластинки розширений і з'єднаний двома склеритами з дугами клапана; довжина середніх гачків 0,028-0,033 мм; рукоятки – 0,058-0,071мм; діаметр присоски – 0,07-0,19 мм; глотка – 0,06-0,13 мм; кишка в середній ділянці задньої частини тіла утворює повторно розгалужені вирости; розміри яєць – 0,32-0,43+0,08-0,12 мм.

Трематодози риб

Організація і проведення роботи:

Трематоди – великий клас плоских гельмінтів з листовидним тілом, сплющеним в дорсовентральному напрямку. Розміри гельмінтів від 1 до 20-30 мм. Тіло вкрите кутикулою, на якій можуть бути хітиноїдні шипики, голки, лусочки. Органи прикріплення – присоски (частіше дві, рідше одна, інколи група присосок). Черевна присоска знаходиться в середній частині на вентральній стороні тіла. Ротова присоска знаходиться частіше на самому передньому кінці тіла. У центрі ротової присоски є ротовий отвір. Інколи органи прикріплення можуть бути представлені групою присосок або крупним диском з присмоктувальними ямками або взагалі бути відсутніми, наприклад, у представників родини *Sanguinicolidae*, які паразитують у кровоносній системі риб.

Травна система трематод представлена ротовим отвором, мускульною глоткою – фаринксом, стравоходом і кишечником. Кишечник складається зазвичай з двох стовбурів, які закінчуються сліпо, або представлений одним стовбуром (рис. 38).

Переважна більшість трематод – гермафродити. Лише зрідка у деяких паразитів морських риб спостерігається гонохоризм. Чоловіча статева система представлена двома, рідше одним, або багатьма сім'яниками. З них виходять сім'явиносні канали, які зливаються в сім'япровід. На кінці сім'япроводу знаходиться мускульний цирус. Жіноча статева система складається з яєчника та яйцепроводу, що відходить від нього. Яйцепровід відкривається в оотип, де відбувається формування яєць і жовтяників. Яйця трематод, як правило, видовжено-овальної форми (у сангвинікола – трикутні), з хітиноїдною шкаралупою і в більшості випадків мають кришечку на одному з полюсів. Будова чоловічої і жіночої статевих систем є важливою систематичною ознакою.

Розвиток трематод складний, із зміною поколінь і зміною хазяїв (двох, трьох і більше). Яйця гельмінтів разом з екскрементами риби потрапляють у воду, де з них вилуплюються рухливі, покриті очками личинки – мірацидії. Мірацидії вільно плавають і проникають у черевоногого молюска – першого проміжного хазяїна.

У печінці або травній залозі молюска мірацидія перетворюється в нерухому мішковину спороцисту. Всередині неї партеногенетично формуються редії та церкарії. Церкарії морфологічно нагадують дорослі форми, але їх статева система ще не розвинута. Вони дуже рухливі, покидають молюска і плавають у воді за допомогою хвоста. Активно проникаючи в покрови, церкарій потрапляє в наступного проміжного хазяїна – рибу (інколи водного безхребетного), де, відкинувши хвіст, мігрує в певні органи та тканини і перетворюється в наступну личинкову стадію – метацеркарій. Кінцевим (дефінітивним) хазяїном трематод є хребетні тварини: рибоїдні птахи, риби, рептилії і ссавці. У дефінітивному хазяїні гельмінти стають статевозрілими і називаються маритою.

Локалізація трематод в організмі риб різноманітна. Статевозрілі паразити у риб, як правило, поселяються у кишечнику, деякі види – у внутрішніх органах і кровоносній системі, личинки (метацеркарії) – під шкірою, епітелієм плавців і зябер, в очах, в порожнині тіла, головному мозку і мускулатурі риб.

Порядок проведення роботи:

1. Збір матеріалу. Живу рибу знерухомлюють і кладуть в кювету. Ретельно оглядають, реєструючи різні відхилення в забарвленні і цілісності зябер, покровів тіла (наявність мармуровості зябер, ділянок некрозу, точкових крововиливів на світлих ділянках тіла і темних пігментних плям). Рибу зважують і вимірюють. Роблять надрізи шкіри навколо плям (якщо вони є), відгинають обрізаний клаптик шкіри, скальпелем знімають цисту трематоди і переносять її в краплю фізіологічного розчину або води. Відрізають зяброві пелюстки і компресійним способом проглядають їх на наявність яєць сангвиніколи. Можливе знаходження церкаріїв, що відкинули хвіст, проникнувши в рибу через зябра.

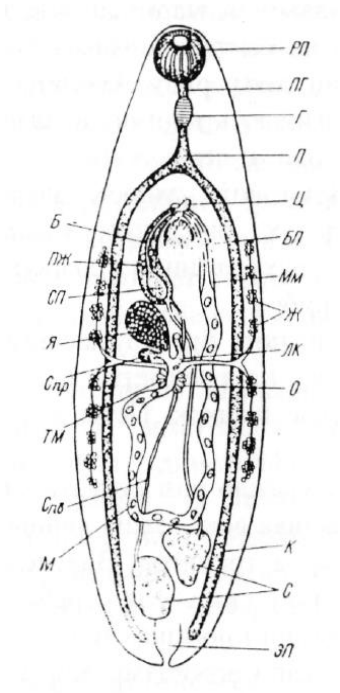


Рис. 38. Схема будови трематод: РП – ротова присоска, ПГ – передглотка, Г – глотка, П – стравохід, Ц – цитрус, ЧП – черевна присоска, Мм – метратерм, Ж – жовтянки, ЛК – Лаурерів канал, О – оротип, К – кишечник, С – сім'яники, ЕМ – екскреторний міхур, М – матка, Спв – сім'япровід, ТМ – тільце Меліса, Спр – сім'яприймач, Я – яєчник, СМ – сім'яний міхурець, ПЗ – простатна залоза, Б – статева бурса (рис. Кабле, 1966; Меліус, 1983)

Яйця і церкаріїв виділяють препарувальними голками і переносять піпеткою в краплю води на предметне скло (щоб вода швидко не висохла, закривають скло чашкою Петрі).

Розтинають рибу і уважно розглядають внутрішні органи, брижу, порожнину тіла, де можлива локалізація личинок тетракотіле та ін., інцистованих метацеркаріїв трематод. Виявлених паразитів (окремо з кожного органу) на кінчику скальпеля переносять в склянку з водою. Виділяють внутрішні органи і поміщають в окремі чашки Петрі. Серце кладуть в годинникове скло і розрізають його ножицями. Кров із серця проглядають під мікроскопом на наявність сангвініколи. При наявності гельмінта, його переносять в окрему солонку з фіз. розчином. Ножицями роблять розріз вздовж всього кишечника (включаючи шлунок і глотку), роблять скребок з його внутрішньої поверхні. Весь вміст скребка кладуть на скло для розтину. Незначну частину вмісту переносять в краплю води на скло для розтину, накривають предметним склом і, натиснувши на вміст, переглядають його під мікроскопом. Рахують і виділяють паразитів. Таким же чином переглядають весь вміст скребка.

Виявлених гельмінтів переносять в окрему солонку з дистильованою водою. Видаляють головний мозок риби, звертаючи увагу на наявність крововиливів і проглядають компресійним способом. Виявлених метацеркаріїв виділяють і поміщають в солонку з водою.

2. Збір, фіксація і приготування тотальних препаратів з метацеркаріїв родини Diplostomidae. Видаляючи очне яблуко, підрізають його біля основи тонкими ножицями, кладуть на предметне скло, розрізають очі ножицями і, виділивши скловидне тіло та кришталик, проглядають під мікроскопом. Кришталик поміщають між двома пластинками предметного скла і, стиснувши його до появи «білого ядра» в центрі, проглядають під мікроскопом.

Скловидне тіло проглядають компресійно. Знімають одне предметне скло, за допомогою препарувальних голок і піпетки з тонко відтягнутим кінцем виділяють метацеркарії і поміщають на 2-3 години в солонку з фільтрованою ставовою водою.

Потім відбирають з води живих паразитів, переносять їх в неглибоку пробірку-поплавець і заливають оцтовокислим карміном на 10-15 хв, збирають піпеткою кармін і додають солянокислий 70%-й спирт.

Диференціювання органів за забарвленням проводять під мікроскопом. Зневоднюють гельмінтів, пропустивши їх через спирт зростаючої міцності (70%-й, 80%-й, 90%-й, 96%-й) і витримуючи в кожному 10 хв. Просвітлюють метацеркарії у диметилфталаті. Для цього гельмінтів обережно поміщають в бюкс зі 96%-м спиртом та диметилфталатом.

На початку просвітлення паразити розташовуються на межі спирту (верхній шар) і диметилфталату (нижній шар). Після просвітлення (просякання диметилфталатом), коли гельмінти опускаються на дно бюкса, їх тонкою піпеткою переносять на предметне скло. На інше чисте предметне

скло наносять краплю бальзаму, в яку препарувальною голкою помішають 5-6 метацеркаріїв і накривають покривним склом, контролюючи ступінь стиснення під мікроскопом.

Оформлюють етикетку на препарат.

3. Фіксація і виготовлення тотальних препаратів з личинок і дорослих трематод. Звільнену від тканини і слизу цисту гельмінта переносять в краплю води на предметне скло. Скло поміщають під мікроскоп, за допомогою звичайної препарувальної голки та спеціальної голки Сударікова (кінець якої має вигляд розплющеного і трохи вигнутого вушка швейної голки) обережно розривають зовнішню і внутрішню оболонки цисти і звільняють личинку. Наступну фіксацію і фарбування личинок і зрілих трематод надалі здійснюють таким же чином. Спочатку знерухомлюють гельмінтів, нагрівши його на предметному склі з водою, підігрітою до 60-70°С (до появи пари). Поміщають гельмінтів між предметним і покривним склом, опускають в чашку Петрі, регулюючи ступінь стиснення гирьками від терезів (паразит повинен бути добре розправлений, але не розчавлений!).

Притримуючи голкою чи пінцетом верхні стінки, заливають в чашку Петрі 70%-й спирт на 10-20 хв. Зафіксованих таким чином трематод можна зберігати в фіксаторі протягом тривалого часу. Для виготовлення тотального препарату гельмінтів відмивають у дистильованій воді до повного видалення фіксатора, для чого поміщають у воду на 0,5-2 год. Для фарбування відмитих гельмінтів заливають водним розчином кварцового кераміну. Час фарбування складає від 10 до 30-60 хв., в залежності від щільності покривів об’єкта.

Добре зафарбованих гельмінтів промивають і заливають солянокислим спиртом, контролюючи під мікроскопом ступінь диференціювання органів і тканин за пофарбуванням. Піпеткою відсмоктують солянокислий спирт і пропускають гельмінтів через спирти зростаючої міцності 70%-й, 80%-й, 90%-й, 96%-й). Для висвітлення паразитів використовують диметилфталат (інколи гвоздичну олію), як це описано для метацеркаріїв родини *Diplostomidae*. Після повного висвітлення гельмінтів переносять в краплю канадського бальзаму на предметне скло і накривають покривним склом, регулюючи ступінь стиснення під мікроскопом. На виготовлений препарат клеять етикетку.

4. Визначення паразитів. Вид трематод визначають за допомогою постійних фарбованих препаратів. Препарат з гельмінта поміщають під мікроскоп і вивчають його зовнішню і внутрішню будову (травну і статеву системи, наявність яєць та їх форму і т.д.). Занотовують у робочий зошит і замальовують особливості будови паразита. Користуючись визначником, з’ясовують видову належність трематоди. Необхідні виміри проводять окуляром-мікрометром (особливо при визначенні метацеркаріїв диплостомід). Оформлюють етикетку до препарату.

Проглядають під мікроскопом постійні препарати трематод з колекції. Занотовують морфологічні особливості паразитів при віднесені їх до виду.

Родина: *Diplostomidae*

Рід: *Diplostomum*

Diplostomum spathaceum (рис. 39)

Хвороба: диплостомоз – широко поширене захворювання, збудником якого є личинки (метацеркарії) трематоди. Це захворювання називають паразитарною катарактою. Статевозрілі стадії гельмінта локалізуються у кишечнику птахів.

Хазяїн: багато видів риб, головним чином коропових, а також окуневих.

Локалізація: кришталик ока, рідше скловидне тіло між склерою і ретиною, викликаючи при цьому помутніння кришталика і рогівки.

Географічне поширення: реєструється всюди – як у природних водоймах, так і в ставових господарствах.

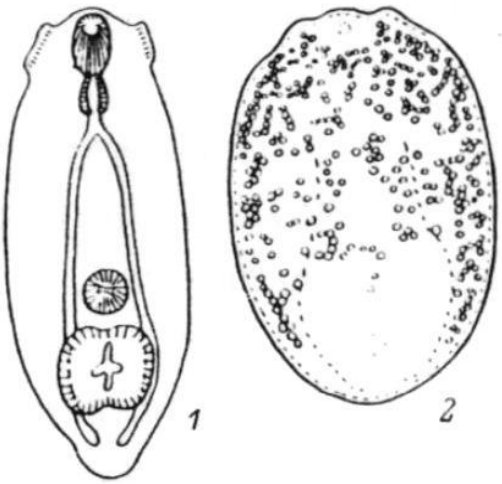


Рис. 39. *Diplostomum spathaceum* (Шигін, 1968):
1 – загальний вигляд; 2 – розташування вапнякових тілець

Макроскопічні дослідження:

Паразит неозброєним оком не виявляється.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

а) досліджується кришталик і скловидне тіло ока риби;

б) мікроскопічні ознаки: тіло метацеркарія овальне, довжиною 0,4-0,5 мм, прозоре, складається з двох сегментів; на передньому кінці добре помітні вушковидні вирости і ротова присоска; черевна присоска розташована дещо далі, в задньому кінці тіла; поряд з черевною присоскою знаходиться залозистий орган Брандеса; в тілі метацеркаріїв є вапняні тільця, кількість і розташування яких є систематичною ознакою; кишечник складається з двох стовбурів, які закінчуються сліпо.

Рід: *Posthodiplostomum*

Родина: *Posthodiplotomum cuticola* (рис. 40)

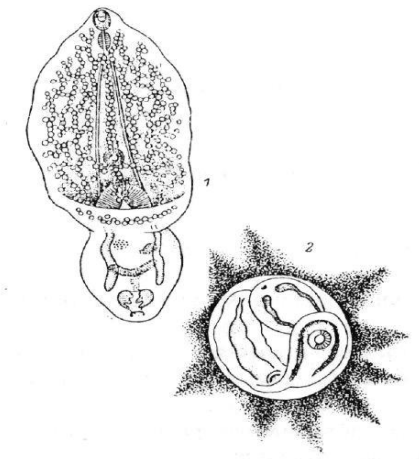


Рис. 40. *Posthodiplotomum cuticola* (Сударіков, 1971):
1 – загальний вигляд; 2 – личинка в цисті

Хвороба: постодиплостомоз.

Хазяїн: коропові, рідше окуні, щука, лопатоніс, щиповка, голець, в'юн, колюшки, сом.

Локалізація: паразит утворює характерні чорні плями на шкірі і плавцях риб.

Географічне поширення: басейни річок, що впадають в Чорне море, в багатьох водосховищах і рибних господарствах.

Макроскопічні дослідження:

Метацеркарії локалізуються та інцистуються в епітелії і субепітеліальних клітинах мускульних тканин поверхні тіла на глибині 1,5-2 мм. На шкірі виявляються невеликі чорні горбики, кожен з яких є сполучнотканинною капсулою, всередині якої знаходиться личинка і тут же відкладається пігмент гемо меланін – продукт розпаду гемоглобіну крові, пігментних клітин і хроматофорів шкіри.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

а) видаляють сполучнотканинну капсулу за допомогою пінцета та скальпеля, розтинають її і проглядають під мікроскопом;

б) мікроскопічні ознаки: личинки метацеркаріїв є доволі крупними: до 1-2,5 мм довжини і 0,5-0,7 мм ширини; тіло прозоре, складається з розширеного переднього та звуженого заднього відділів; на передньому кінці тіла ротова присоска, посередині – черевна; позаду черевної присоски розташований фіксаторний залозистий апарат – орган Брандеса.

Родина Strigidae (рис. 41)

Личинки трематод відомі під назвою *Tetracotile* за своїм морфологічним типом і наявністю чотирьох присмоктувальних апаратів. Дорослі трематоди паразитують у кишечнику різних водоплавних рибоїдних птахів. Найбільше епізоотологічне значення мають *T. perca fluviatilis, Apharyngostrigea cornu*.

Хвороба: тетракотильоз

Хазяїн: білий амур, судак, щука, йорж, сиг, окунь і деякі інші види риб.

Локалізація: на серозних покривах порожнини тіла, в кишечнику, в стінках плавального міхура, печінці, серці, яєчниках, нирках та ін.

Географічне поширення: в річках, озерах, водосховищах басейну Дніпра, Дунаю, рибницьких господарствах.

Макроскопічні дослідження

При патологоанатомічних розтинах виявляють цисти і метацеркарії в різних органах.

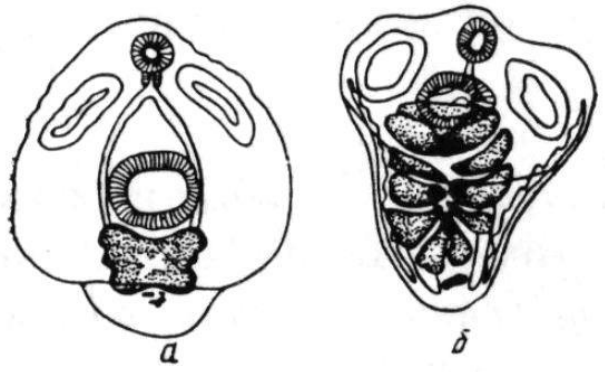


Рис. 41. Збудники тетракотильозу:
а – *Tetracotile perca fluviatailis*; б – *Apharyngostrigea cornu*
(Бауер, Мусселіус, Стрелков, 1981)

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

а) мікроскопія цист і знаходження личинок тетракотилід;

б) мікроскопічні ознаки: метацеркарії крупні: до 0,8-1,0 мм довжини і 0,5-0,6 мм ширини; форма тіла еліптична, з рівномірно заокругленими кінцями; є ротова і черевна присоски; по боках ротової присоски знаходяться дві бічні овально витягнуті присоски, позаду черевної присоски розташований орган Брандеса, а за ним зачатки статевих залоз.

Родина *Opistorchidae*

Трематоди з видовженим, сплющеним і завжди помітно звуженим спереду тілом. Присоски порівняно слабо розвинені і зближені. Розгалуження кишечника довгі, стравохід різної довжини. Статевий отвір спереду черевної присоски. Сім’яники округлі або лопатеві, один за іншим в задній частині тіла. Жовтяники латеральні, в середній третині тіла. Сумка цируса відсутня. Матка знаходиться перед яєчником, інколи доходить назад до сім’яників. У дорослому стані викликає захворювання опісторхоз – захворювання людини і м’ясоїдних тварин: собак, котів, лисиць та ін.

Статевозрілі опісторхіси паразитують в жовчних протоках, жовчному міхурі і підшлунковій залозі, викликаючи важке ураження печінки. Личинкові стадії гельмінта – метацеркарії локалізуються в мускулатурі прісноводних коропових риб.

Opistorchis felineus (рис. 42)

Хвороба: опісторхоз

Хазяїн: плитка, єлець, карасі, сазан, лящ, усач, подуст, в'язь, лин, густера, чабак, чехонь, краснопірка, гольян та інші.

Локалізація: мускулатура та сполучна тканина риб.

Географічне поширення: річки басейнів Чорного, Балтійського, Каспійського морів.

Макроскопічні дослідження:

У риб помітних відхилень не виявляють, але при інтенсивному ураженні м'язової тканини в місцях локалізації метацеркаріїв утворюються чисельні інкапсульовані ділянки із сполучної тканини, що розрослась.

Мікроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

а) досліджують цисту з гельмінтами;

б) мікроскопічні ознаки: цисти від 0,17+0,21 мм до 0,25+0,33 мм; личинки в цисті рухливі; звільнений метацеркарій величиною 0,44-1,36+0,15-0,30 мм; ротова присоска 0,07-0,1 мм, черевна - 0,09-0,14 мм, розташована у задній частині тіла; глотка 0,02-0,03+0,05 мм; зачатки сім'яників – по повздовжній вісі тіла або навскоси; видільний міхур у променях прохідного світла має вигляд великої темної плями.

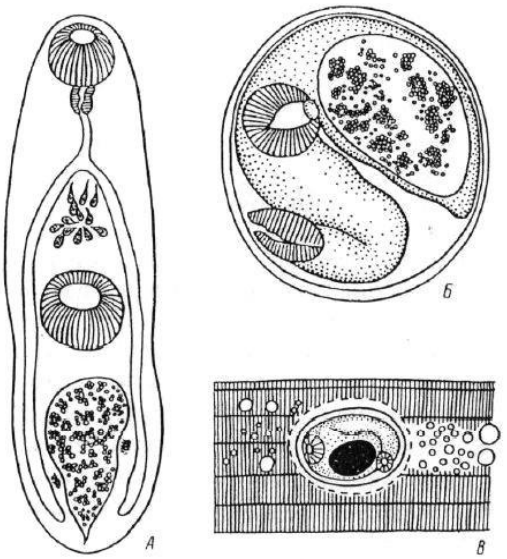


Рис. 42. *Opistorchis felineus*:
А – загальний вигляд; Б – личинка в цисті (Vogel, 1934); В – циста з личинкою в м'язах риби (Биховська-Павловська, 1985)

Запитання для самоконтролю:

1. Значення іхтіопатологічних досліджень при встановленні діагнозу на гіродактильоз та дактилогіроз.
2. Загальні правила встановлення діагнозу диплозоон.
3. особливості встановлення діагнозу на опісторхоз.
4. У чому полягає небезпека виникнення опісторхозу.

Практичне заняття № 33

Тема: Цестодози риб

Мета заняття: збір і фіксація гельмінтів. Визначення систематичних груп цестод. Методи виготовлення препаратів, визначення паразитів.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, препарувальна голка, пінцети, ножиці, кювети, чашки Петрі, лабораторна солонка, годинникові скла, імерсійне масло, вата, марля, фільтрувальний папір, замазка для препаратів, гліцерин-желатин, 96°-й етиловий спирт, розчин квасцьового карміна, підкислений спирт, розчин аміаку, канадський бальзам, лоток для препаратів, жива або охолоджена риба, готові препарати цестод, визначник паразитів прісноводних і морських риб.

Завдання:

1. Навчитися проводити збір та фіксацію гельмінтів. Визначити систематичні групи цестод. Методи виготовлення препаратів, визначення паразитів.

Організація і проведення роботи. Цестоди – чисельний клас плоских червів широко поширений у прісноводних і морських риб. Тіло цестод стьожковидне, складається з головки (сколекса), шийки і великої кількості члеників (стробіл). У деяких цестод тіло незчленоване. На голові розташовані органи прикріплення: ботридії, присоски, гачки, хоботки та ін. (рис. 43).

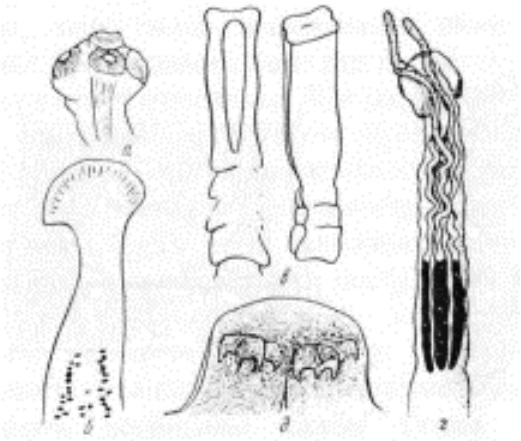


Рис. 43. Органи прикріплення цестод: а – присоска *Silyrotaenia siluri*; б – ботрії *Caryophyllaeus laticeps*; в – ботрії *Bothriocephalus scorpii*; г – хоботок *Tetrarhynchus*; д – гачечки *Triaenophorus* (за різними авторами)

Травна система відсутня. Видільна – протонефридіального типу. Стьожкові черви – гермафродити. У розчленованих цестод, в кожному членику, (окрім передніх молодих) є свій статевий комплекс, у нерозчленованих (гвоздичникові) частіше є один комплекс, інколи декілька (ціатоцефалюс), включаючи яєчник, яйцеводи, матку, чоловічі і жіночі статеві протоки, а також чисельні жовточники і сім’янники (рис. 44).

Будова органів прикріплення, наявність шийки, будова статевої системи (розташування і кількість жовточників, сім’янників, форма яєчника, матки та ін.) мають важливе систематичне значення.

Розвиток цестод складний, з участю проміжних хазяїв. Дефінітивними хазяїнами цестод риб є птахи, риби, в кишечнику яких паразитують статевозрілі цестоди. З екскрементами птахів або риб яйця гельмінтів потрапляють у воду, де з них виходить рухлива війчаста личинка – корацидій. Корацидіїв частіше всього заковтують нижчі ракоподібні (циклопи, діаптомуси, бокоплави, мізиди) в тілі яких розвивається личинкова стадія – процеркоїд. Зараженого циклопа з'їдає риба, в якій паразит досягає наступної личинкової стадії – плероцеркоїда. У риб плероцеркоїди локалізуються у мускулатурі, печінці, порожнині тіла, стінках кишечника та інших внутрішніх органах.

Уражену плероцеркоїдом рибу з'їдають рибоїдні птахи, інколи хижа риба, ссавці, в кишечнику яких паразит стає статевозрілим. Є і інші цикли розвитку цестод з участю тільки одного проміжного живителя, як, наприклад, ботріоцефалюс, протеоцефалюс (циклопи), гвоздичники (олігохети) та ін.

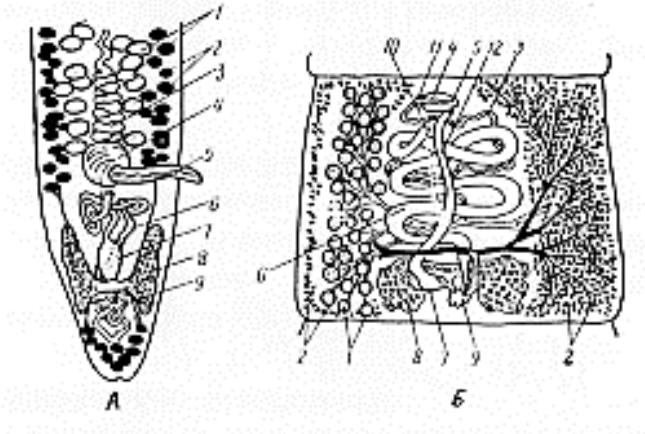


Рис. 44. Схема будови системи нечленованих (А) і членованих (Б) цестод: 1 – сім'яники, 2 – жовтяники, 3 – сім'япровід, 4 – сумка цируса, 5 – цирус, 6 – матка, 7 – сім'яприймач, 8 – яєчник, 9 – шкарлупові залози, 10 – отвір матки, 11 – сім'яний мішечок, 12 – піхва

Найбільш поширеними серед прісноводних риб є роди: *Caryophyllaeus, Khawia, Triaenophorus, Cyathocephalus, Bothriocephalus, Proteocephalus*. Паразитують у риб на личинковій стадії (плероцеркоїда): *Dilepis, Gryporhynchus* та ін. У морських риб часто паразитують представники роду *Bothriocephalus,* родів *Nybelinia, Tentacularia*, личинки тетрафилід родини *Phyllobotriidae* та ін. У осетрових риб зустрічаються в порожнині тіла представники роду *Amphilina*.

Хід роботи:

1. Збір матеріалу. Живу рибу знерухомлюють, поміщають в кювету. Розтинають черевну порожнину і ретельно оглядають внутрішні органи, де можна виявити плероцеркоїди ремінців, стьожковика широкого та ін. Обережно виділяють комплекс внутрішніх органів, а з них (не пошкоджуючи) видаляють кишечник. Поміщають його на скло для розтину і розрізають маленькими ножицями вздовж.

Якщо кишечник досить довгий (від крупної риби), його досліджують частинами.

Для цього його розрізають на декілька частин і вже кожну частину розрізають повздовж, оглядаючи вміст та виймають пінцетом всіх стьожкових червів, який видно неозброєним оком. Потім виділяють вміст кишечника і розглядають його під лупою або бінокуляром, далі роблять скребок із слизової кишечника. Все це досліджують, притискаючи між двома склами, компресійним способом. Якщо досліджують хижу рибу, яка має пілоричні придатки, то їх також обережно розрізають повздовж, щоб не пошкодити головок стьожкових червів, котрі часто прикріплюються в них. Окрім того, розглядають мускулатуру, гонади, печінку, де можуть бути личинкові стадії цестод, наприклад, трієнофорус.

2. Вивчення живих паразитів. Виділеного, звільненого від слизу і відмитого гельмінта поміщають на предметне скло в краплю чистої води. Накривають покривним склом (якщо гельмінт великий – предметним склом), розглядають під лупою і бінокуляром на наявність або відсутність членованості, будову головки, прикріплювальних органів на ній.

3. Виготовлення пофарбованих препаратів. Для визначення виду стьожкових червів недостатньо вивчити живих паразитів, так як у них не завжди видно будову головки, внутрішніх органів, що дуже важливо для з'ясування систематичного положення паразита. Тому стьожковиків обов'язково фарбують.

4. Визначення паразитів. Виготовлені або задовго підготовлені препарати розглядають під бінокуляром, а також під малим (7х9) і великим (7х40) збільшенням мікроскопу. Уважно вивчають будову головки: наявність і кількість присосок, ботридій, гачків, кількість члеників стробіли, а також будову статевої системи, розташування і кількість жовтяників і сім'яників, будову матки, яєчників. Результати роботи оформляють у зошиті.

Родина: *Caryophyllaeidae*

Рід: *Caryophyllaeus*

Caryophyllaeus fimbriceps (рис. 45)

Хвороба: Каріофільоз

Хазяї: сазан, короп, лящ, лин, плітка

Локалізація: кишечник

Географічне поширення: ставові господарства України, річки і водосховища басейнів Чорного і Азовського морів.

Макроскопічні дослідження:

Тіло гвоздичника нечленоване; біле, довжиною 15-25 мм, шириною 1,0-1,5 мм; головка розширена з чисельними фестонами; шийка виражена нечітко.

Мікроскопічні дослідження:

а) досліджують цисту з гельмінтами;

б) мікроскопічні ознаки: головне розширення велике, з глибокими фестонами; сім'яників багато; жовткові фолікули щільним шаром оточують сім'яники і простягаються назад латеральними полями до переднього краю

лопатей яєчника; сумка цируса мускулиста 0,8-1,8 мм; сім'яприймач маленький; петля матки нечисельна; яйця білувато-сірі, розміром 0,063-0,070 + 0,035-0,040 мм.

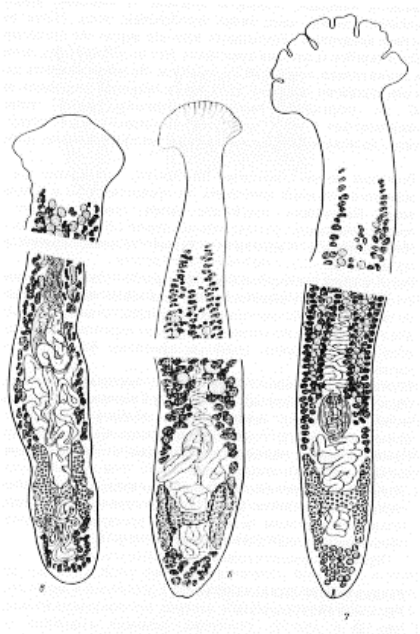


Рис. 45. Гвоздичники роду *Caryophyllaeus*, передні і задні кінці тіла: *C. laticeps, C. fimbriceps, C. brashycollis* (за Дубініна, 1962)

Caryophyllaeus brashycollis

Хвороба: Каріофільоз

Хазяї: вусач, короп, лящ, язь

Локалізація: кишечник

Географічне поширення: ставові господарства України, басейни річок Дунаю і Дністра.

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

а) пряме дослідження неозброєним оком;

б) дослідження після попередньої обробки.

Макроскопічні ознаки: довжина статевозрілого гельмінта 17-40, ширина 1,5-2,5 мм; передній край головного кінця розширення гладкий, дещо конусоподібний; шийне звуження відсутнє.

Мікроскопічні особливості: жовткові фолікули щільним шаром оточують сім'яник, в ділянці матки проходять по боках тіла до переднього краю лопатей яєчника і в задньому кінці тіла утворюють невелику постоваріальну групу; сумка цируса 0,72-1,30 + 0,60-0,81 мм; цирус 0,16-1,6 мм; яєчник з криловидними лопатями довжиною 0,9-1,4 мм; задні частини лопатей коротші за передні; сім'яприймач великий; петлі матки широкі, але не чисельні; яйця 0,07 + 0,04 мм.

Родина: *Lytocestidae*

Рід: *Khawia*

Khawia sinensis (рис. 46)

Хвороба: Кавіоз

Хазяї: сазан, короп, білий амур
Локалізація: кишечник
Географічне поширення: ставові господарства України.
Макроскопічні дослідження:
1. Методи дослідження:
а) пряме дослідження неозброєним оком;
б) дослідження після попередньої обробки.
2. Макроскопічні ознаки: нечленований крупний білий гельмінт; довжина від 80 до 170 мм і ширина 3,5-5,0 мм; головний кінець віялоподібно розширений з фестончатим переднім краєм; шийка відсутня; задній кінець звужений і загострений.

Мікроскопічні особливості: сім'яники і жовтяники розташовані на невеликій відстані від голови; у ділянці статевого комплексу знаходяться поодинокі жовткові фолікули; на задньому кінці тіла розташована велика постоваріальна група жовтяників; яєчник Н-подібний, передні лопаті його значно ширші задніх; петлі матки не заходять вперед сумки цируса; сумка цируса крупна, розміром 0,76-0,80 мм; яйця сірувато-білі, розміром 0,042-0,048 + 0,25-0,30.

Рис. 46. *Khawia sinensis* (за Hsu, 1935), передній і задній кінці тіла

Запитання для самоконтролю:

1. Значення іхтіопатологічних досліджень пр встановленні діанозу при пораженнями гвоздичниками.
2. Загальні правила диференціації гвоздичників за принципом морфологічної будови та принципом поширення.
3. Характеристика мікро та макроскопічних досліджень гвоздичників.

Практичне заняття № 34

Тема: Характеристика Родини *Diphylobothridae*

Мета заняття: збір і фіксація паразитів Родини *Diphylobothridae*. Визначення систематичних груп цестод. Методи виготовлення препаратів, визначення паразитів.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, препарувальна голка, пінцети, ножиці, кювети, чашки Петрі, лабораторна солонка, годинникові скла, імерсійне масло, вата, марля, фільтрувальний папір, замазка для препаратів, гліцерин-желатин, 96°-й етиловий спирт, розчин квасцьового карміна, підкислений спирт, розчин аміаку, канадський бальзам, лоток для препаратів, жива або охолоджена риба, готові препарати цестод, визначник паразитів прісноводних і морських риб.

Завдання:

1. Навчитися проводити збір та фіксацію гельмінтів. Визначити систематичні групи цестод. Методи виготовлення препаратів, визначення паразитів.

Родина: *Diphyllobothridae*

Рід: *Diphyllobothrium*

Diphyllobothrium latum (рис. 47)

Хвороба: Діфілоботріоз – інвазійне захворювання людини і м’ясоїдних – собак, котів, лисиць, песців, яке викликається стьожаком широким, що паразитує в кишечнику, а його личинкова стадія (плероцеркоїд) – в рибі.

Хазяї: щука, окунь, лин, йорж

Локалізація: в мускулатурі, стінці кишечника, очеревині, печінці, жировій тканині, в ікрі (особливо щук).

Географічне поширення: басейн річок Дніпра, Дунаю.

<u>Макроскопічні дослідження:</u>

1. Методи дослідження:

а) проводять розтин риби, методом простого огляду, а також за допомогою лупи ретельно оглядають внутрішні органи на наявність в них плероцеркоїдів;

б) компресорним методом досліджують шматочки м’язів і окремі внутрішні органи: кишечник, печінку, жирову тканину.

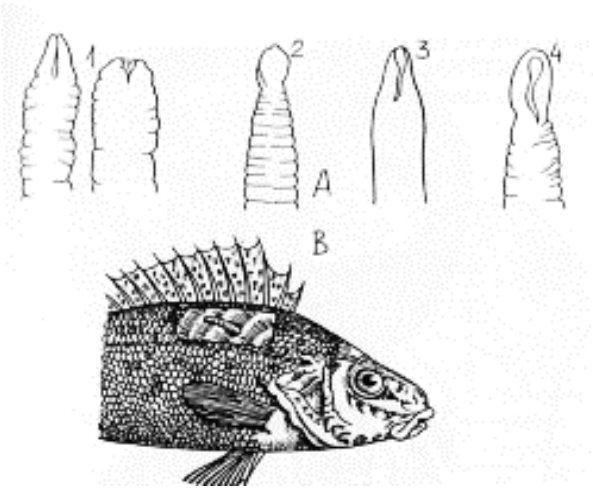


Рис. 47. А – плероцеркоїди роду *Diphyllobothrium*, головні кінці:
1 – *D. latum*, 2 – *D. dendriticum*, 3 – *D. ditremum*, 4 – *D. vogeli*;
В – плероцеркоїд стьожака широкого в мускулатурі йоржа
(за Павловським, 1946)

Макроскопічні особливості: локалізовані під шкірою паразити просвічуються у вигляді білих вузликів, або видовжених утворень, при огляді серозної оболонки також бувають помітні на поверхні плероцеркоїди;

Мікроскопічні ознаки: плероцеркоїди видовженої форми, тіло непочленоване, молочно-білого або кремового кольору; довжина 6-60 мм, ширина 1-3 мм; на передньому кінці тіла є ботрії видимі при малому збільшенні.

Родина: *Bothriocephalidae*

Рід: *Bothriocephalus*

Bothriocephalus acheilognathi (рис. 48)

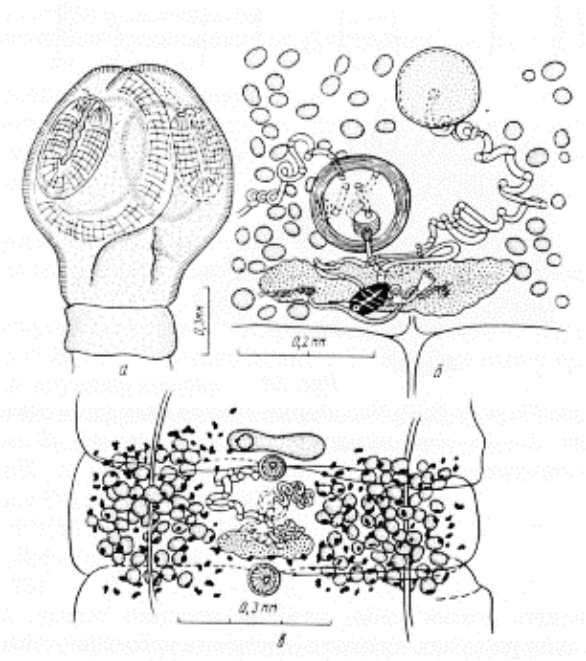


Рис. 48. Збудник ботріоцефальозу – *Bothriocephalus acheilognathi*:
а – сколекс; б – серединне поле статевозрілого сегмента;
в – статевозрілий членник (за Протасов, 1977)

Хвороба: Ботріоцефальоз

Хазяї: білий амур, короп, сазан, плітка, в'язь, білизна, лящ, карась, голець, сом, судак

Локалізація: кишечник

Географічне поширення: річки, водосховища, ставові господарства України

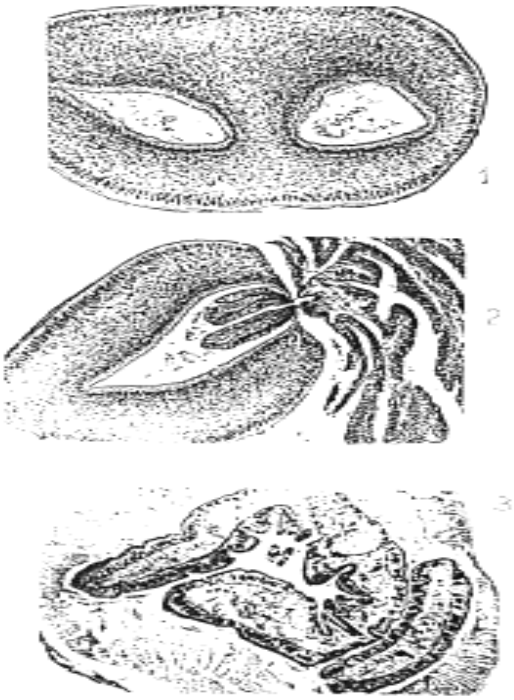


Рис. 49. Гістозрізи тіла ботріоцефалюса і кишки коропа: 1 – дві ботрії сколекса, 2 – фіксація сколекса до слизової оболонки, 3 – поперечний зріз кишки з ботріоцефалюсами (спостерігається руйнування слизового шару)

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

а) промивання кишечника коропа;

б) розтин кишечника і виявлення в ньому ботріоцефалюса.

Макроскопічні ознаки: цестода білого або кремового кольору; тіло видовжене; статевозрілі гельмінти 15-25 см довжина і 1-4 мм ширини; головка (сколекс) серцевидної форми з двома ботріями; стробіла складається з чисельних члеників, задні значно ширші за передніх, тому краї паразита здаються зазубреними;

Мікроскопічні особливості: головка серцевидна з двома симетрично розташованими ботридіальними щілинами; зовнішня сегментація не завжди співпадає з внутрішньою; сім'яники (по 50-90 в кожному членику) округлі, розташовані у бокових полях проглотид; жовтяники значно менші сім'яників, розташовані в корковому шарі бокових полів; яєчник дволопатевий, лежить медіально біля заднього краю члеників; матки розташовані на вентральній стороні гельмінта; яйця блідо-сірого кольору, з «кришечкою» на одному кінці розміром 29-49 мкм; при виході з матки в яйцях є вже майже сформований ембріон.

Родина: *Ligulidae*
Рід: *Ligula*
Ligula intestinalis (рис. 50)
Хвороба: Лігульоз
Хазяї: плітка, в'язь, гольян, краснопірка, маринка, лящ, тарань, карась, короп, сазан, білий амур, товстолобики.
Локалізація: черевна порожнина
Географічне поширення: ставові господарства розташовані поблизу озер, водосховищ або лиманів.
Макроскопічні дослідження:
1. Методи дослідження:
а) розтин риби і виявлення в черевній порожнині плероцеркоїдів ремінців;
Макроскопічні особливості: крупні гельмінти білого кольору; довжина від 10 до 100 см, ширина від 0,6 до 1,2 см; передній кінець тіла заокруглений; зовнішня членованість відсутня; на вентральній стороні гельмінта є, відповідно статевим отворам, повздовжня борозна, типова головка відсутня, її функції виконує передній кінець стробіли, на якому знаходяться дорсальні і вентральні щілиноподібні ботрії; шийка відсутня.

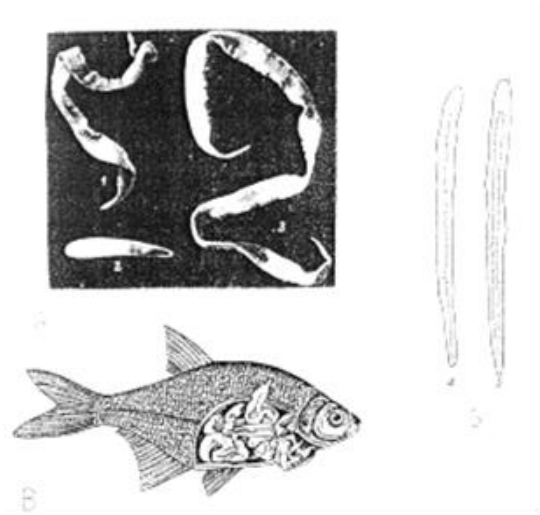


Рис. 50. А – ремінці (за Дубініна, 1966) 1 – *Ligula intestinalis* (із ляща), 2 – *Digramma interrupta* (із сріблястого карася), 3 – *Schistocephalus solidus* (із 9-ти голкової колюшки); Б – схематичне зображення ременців; а – *L. Intestinalis,* б – *D. interrupta;* В – лящ уражений ремінцями (за Маркевич, 1951)

Мікроскопічні ознаки:
На попередніх зрізах через стробілу інвазійного плероцеркоїда видно: тегумент; шар субтегументальних клітин; пучки повздовжньої паренхімної мускулатури; пучки поперечної паренхімної мускулатури; зачатки статевих проток; зачаток яєчника; жовтяники; сім'яники.

Рід: *Digramma*

Digramma interrupta

Хвороба: Діграмоз

Хазяї: короп, в'язь, лящ, вобла, тарань, товстолобики, білий амур.

Локалізація: черевна порожнина

Географічне поширення: центральні і південні райони України.

Макроскопічні дослідження:

а) розтин риби і виявлення в черевній порожнині плероцеркоїдів ремінців.

Макроскопічні особливості: Ремінці цього роду зовнішньо дуже подібні до представників роду *Ligula* і відрізняються від них наявністю на вентральній поверхні стробіли не однієї, а двох повздовжніх борозен (місце розташування отворів всіх статевих комплексів); крупні, мускулисті гельмінти білого кольору; передній кінець тіла заокруглений; довжина від 10 до 120 см, ширина 1-1,2 см; зовнішнє членування відсутнє.

Мікроскопічні ознаки: мускулатура представлена одним повздовжнім і одним поперечним шаром м'язів і окремими дорсально-вентральними волокнами; внутрішня метамерія стробіли спостерігається на ранній стадії розвитку плероцеркоїдної фази; статеві комплекси розташовані в два повздовжні ряди; число статевих комплексів, в залежності від виду риб, коливається від 1300 до 2700; сім'яники розташовані в центральній паренхімі, проходять одним рівномірним рядом вздовж всієї стробіли; яєчники кожного ряду статевих комплексів розташовуються по одному ззовні від статевих проток, статеві отвори відповідних проток з внутрішньої сторони від них; жовткові фолікули рівномірним шаром проходять із всіх сторін гельмінта, ззовні від повздовжніх м'язів; статеві отвори кожного комплексу розташовуються в один поперечний ряд; отвори цирусів в обох рядах статевих комплексів знаходяться на невеликій відстані від середньої лінії стробіли.

Запитання для самоконтролю:

1. Значення іхтіопатологічних досліджень при встановленні діагнозу Родини *Diphylobothridae*.
2. Загальні правила встановлення діагнозу на ботріоцефальоз.
3. Загальні правила встановлення діагнозу на лігульоз.
4. Загальні правила встановлення діагнозу на діграмоз.
5. Обладнання для мікроскопічного дослідження препаратів.

Практичне заняття № 35

Тема: Цестодози морських риб

Мета заняття: збір і фіксація паразитів цестодозів морських риб. Визначення систематичних груп цестод. Методи виготовлення препаратів, визначення паразитів.

Матеріали та обладнання: мікроскоп, препарувальна голка, пінцети, ножиці, кювети, чашки Петрі, лабораторна солонка, годинникові скла, імерсійне масло, вата, марля, фільтрувальний папір, замазка для препаратів, гліцерин-желатин, 96°-й етиловий спирт, розчин квасцьового карміна, підкислений спирт, розчин аміаку, канадський бальзам, лоток для препаратів, жива або охолоджена риба, готові препарати цестод, визначник паразитів прісноводних і морських риб.

Завдання:

1. Навчитися проводити збір та фіксацію гельмінтів. Визначити систематичні групи цестод морських риб. Методи виготовлення препаратів, визначення паразитів.

Стьожаки, які зустрічаються у морських риб, в статевозрілому стані живуть в кишечнику хазяїв: хрящових риб (акул, скатів), морських ссавців, рибоїдних птахів. Личинкові стадії цестод розвиваються у проміжних живителях – безхребетних ракоподібних, а додатковими або другими проміжними живителями є різні види морських риб.

Grillotia erinaceus

Хвороба: Грілотіоз викликається личинковою стадією цестоди грілотія еринацеус. Статевозрілі форми цих цестод паразитують у хрящових риб – акул і скатів.

Хазяї: сарган, пікша, трісочка карликова, сайда срібляста, мерлуза, скумбрія, палтус, ставрида та ін.

Локалізація: порожнина тіла, печінка, м’язи, брижа

Географічне поширення: Північне, Ірландське, Норвезьке моря, Фарерські острови, Атлантичне узбережжя США і Канади

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) пряме дослідження органів;

б) дослідження після попередньої обробки.

Макроскопічні ознаки: личинки грілотії знаходяться в кулькоподібних, еліпсовидних або грушоподібних цистах білого кольору; форми і розміри цист варіюють в залежності від хазяїна; найбільш дрібні цисти мають приблизно 1 мм в діаметрі і локалізуються в м’язах, оточуючи порожнину тіла, а найбільш крупні личинки, які мають довжину 10 мм і більше групуються на стінках травної системи або в м’язах.

Мікроскопічні особливості: сколекс личинок циліндричний, його довжина не перевищує ширину; на сколексі знаходиться два листовидно вігнуті ботридії і чотири більш менш видовжених хоботки, озброєні гачками

Для людини ці паразити незагрозливі, однак при високому ураженні м’язів і печінки цими паразитами риба не може бути використана з харчовою метою.

Ряд: *Trypanorhyncha*

Рід: *Nybelinia*

Nybelinia sp. (рис. 51)

Рис. 51. Личинка *Nybelinia surmenicola*

Хвороба: Нібелініоз

Хазяї: ставридові, тріскові, камбалові, скумбрії та багато інших морських риб

Локалізація: м'язи глотки, стінки травного тракту, печінка

Географічне поширення: Північна Атлантика, Середземне море, атлантичне узбережжя Африки, Патогонський шельф та інші райони Атлантичного океану.

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

а) пряме дослідження цист розташованих в органах риб.

Макроскопічні ознаки: личинки знаходяться в круглих білих цистах; діаметр цист 5-10 мм; найбільш сильно уражені риби старших вікових груп, оскільки з віком відбувається накопичення паразитів в організмі хазяїна.

Мікроскопічні ознаки: на голові личинок знаходяться чотири повністю розділені овальні ботридії – дві дорсальні, дві вентральні і чотири озброєних гачками хоботки; розмір хоботків і гачків варіює в залежності від видової належності нібеліній

Нібелінії не здійснюють помітного впливу на фізіологічний стан риб, незагрозливі для людини. Дефінітивним живителем цих паразитів є хрящові риби.

Личинкові форми цестод

Хвороба: Гімноринхоз м'язів риб

Хазяї: риба-шабля, риба-місяць, морський лящ, меч-риба

Локалізація: інцистовані плероцеркоїди розташовуються у м'язах риб

Географічне поширення: Атлантичне узбережжя Африки, Фолклендсько-Патогонський шельф.

Макроскопічні дослідження:

1) Методи дослідження:

а) пряме дослідження цист, розташованих у м'язах

Макроскопічні ознаки: цисти округлі або овальної форми; блідо-сірого або яскраво-жовтого забарвлення; у риби-шаблі гімноринхус хорідус розташовується в м'язах черевної, рідше спинної і хвостової мускулатури; довжина разом із хвостовим придатком досягає 11-14 см.

Мікроскопічні ознаки: сколекс личинки циліндричний, його довжина в декілька разів перевищує ширину; на сколексі знаходиться чотири ботридії і чотири хоботки, озброєні гачками; постбульбозна частина подовжена або розширена;

Рис. 52. Личинка цестоди *Gymnorhynchus horridus*
(за Гаєвська, Ковальова, 1975)

Паразит нешкідливий для людини, однак висока ступінь ураження м'язів у риб може бути перешкодою для її харчового використання.

Хвороба: Пірамікоцефальоз

Хазяї: тріска, пікша, навага, сайка, корчак європейський, пінагор

Локалізація: порожнина тіла, брижа, внутрішня поверхня кишечника, печінка.

Географічне поширення: Баренцове, Біле, Гренландське, Норвезьке моря, Атлантичне узбережжя Північної Канади.

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

а) пряме дослідження органів.

Макроскопічні ознаки: крупні плероцеркоїди довжиною 3-4 см із характерною стріловидною формою; у випадку локалізації на печінці паразит руйнує її тканини.

Статевозрілі особини даного виду є паразитами тюленів.

Запитання для самоконтролю:

1. Значення іхтіопатологічних досліджень під час діагностики нібелініозу.
2. Значення іхтіопатологічних досліджень під час діагностики гімноринхозу
3. Специфіка досліджень та встановлення диференційного діагнозу цестодозів морських риб.
4. Обладнання для мікроскопічного дослідження препаратів.

Практичне заняття № 36

Тема: Нематоди морських і прісноводних риб

Мета заняття: збір і фіксація, виготовлення тимчасових і постійних препаратів, вивчення морфологічних особливостей нематод, визначення їх виду.

Матеріали та обладнання: мікроскопи, препарувальні голки, пінцети, ножиці, кювети, чашки Петрі, лабораторні солонки, імерсійне масло, вата, марля, фільтрувальний папір, спиртівка, пробірки, рідина Барбагало, молочна кислота, дистильована вода і фізіологічний розчин, гліцерин-желатин, етиловий спирт 70°, лоток для препаратів, колекція нематод, жива або охолоджена риба, фіксовані гельмінти, визначники паразитів прісноводних і морських риб.

Завдання:

1. Провести збір і фіксацію, виготовити тимчасові і постійні препарати, вивчення морфологічних особливостей нематод, визначення їх виду.

Організація і проведення роботи. Нематоди – клас круглих червів, що паразитують у представників багатьох риб. Тіло нематод видовжене, ниткоподібне, завжди кругле у поперечному розрізі з добре розвиненим шкірно-мускульним мішком. Щільна еластична кутикула у деяких видів утворює шипики, гачки, горбики або валики.

На головному кінці тіла розташований отвір, який оточений губами і сосочками. Структура губ, кількість і розташування позаду їх органів має важливе систематичне значення. Травна система складається із стравоходу, середнього і заднього відділів кишечника. Передній відділ стравоходу утворює стому або ротову порожнину, задній – шлуночок. У аскаридат у місцях переходу стравоходу в середню кишку є сліпі стравохідні і кишечні вирости, котрі служать важливою діагностичною ознакою роду. За анальним отвором, яким закінчується кишечник, розташована хвостова частина тіла, форма і розмір якої, а також наявність бокових залоз (фазмид) мають важливе систематичне значення.

Нематоди роздільностатеві. Самці менші за самок. Статева система самців непарна і представлена трубчастими сім’яниками і сім’япроводами. Самці мають допоміжні органи – рухливі спікули.

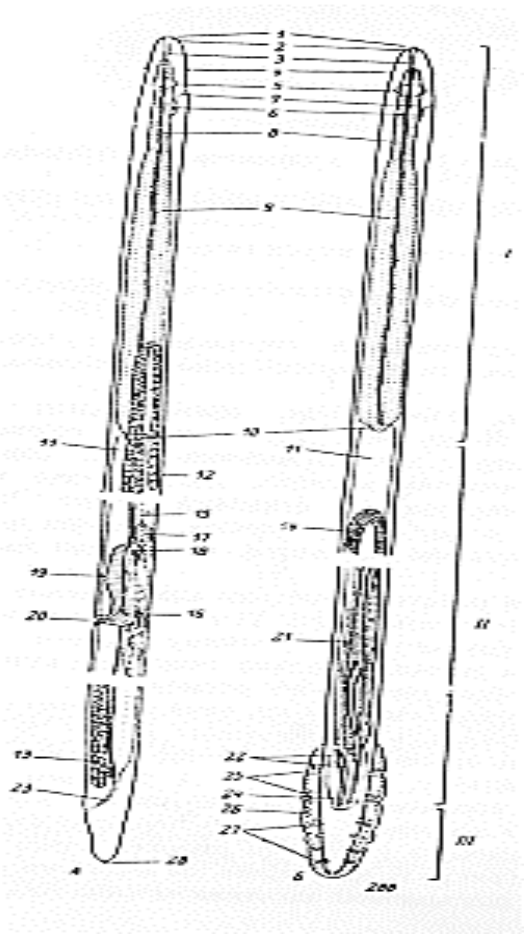


Рис. 53. Загальна схема будови нематод (А – самка, Б – самець)
I – трофіко-сенсорний відділ, II – трофіко-генітальний відділ,
III – каудальний відділ. 1 – губи (псевдоподії), 2 – ротова порожнина,
3 – глотка (фарінкс), 4 – шийні сосочки, 5 – нервове кільце, 6 – шийна залоза,
7 – її вивідна протока і екскреторна пора, 8 – м’язевий стравохід,
9 – залозистий стравохід, 10 – стравохідний клапан, 11 – середня кишка,
12 – передній яєчник, 13 – задній яєчник, 14 – сім’яник, 15 – передня гілка
матки, 16 – задня гілка матки, 17 – яйце, 18 – яйцеклад, 19 – вагіна,
20 – вульва, 21 – вентральні кутикулярні гребні, 22 – спікули (великі і малі),
23 – пряма кишка і анус, 24 – клоака, 25 – преклоакальні сосочки,
26 – хвостові крила, 27 – постклоакальні сосочки, 28 – термінальний
хвостовий сосочок

Нематодози морських риб

Цикли розвитку нематод, що інвазують морських риб, вивчені недостатньо. Яйця або личинки, виведені у зовнішнє середовище, для свого подальшого розвитку, повинні потрапити в залежності від особливостей життєвого циклу паразита, або в іншу особину того ж виду риб, або у проміжного хазяїна. Проміжними хазяїнами є нижчі ракоподібні – копеподи і амфіподи, під час живлення якими риби отримують і личинки нематод. Якщо ці риби є дефінітивними хазяїнами паразитів, то личинки червів, які потрапили в їх кишечник разом з рачками, досягають тут статевої зрілості. У тих випадках, коли дефінітивними хазяїнами є хижі риби, мирні риби

виконують роль другого проміжного живителя, якщо ж нематоди завершують свій розвиток у водоплавних птахів або водних ссавців, риби виступають у якості другого проміжного або резервуарного хазяїна.

Використовуючи риб як кінцевих хазяїв, нематоди локалізуються в травному тракті, не здійснюючи помітного впливу на товарний вигляд продукції. Виключенням є деякі представники родини *Dracunculidae*, місцем локалізації яких є підшкірна клітковина, яєчники, черевна порожнина риб. Якщо риби є додатковими, або резервуарними хазяїнами нематод, то ці паразити можуть інвазувати будь-які органи риб: порожнину тіла, травну систему, м'язи.

Ряд: *Ascaridida*

Підряд: *Ascaridata*

Родина: *Anisakidae*

Хвороба: Анізакідоз

Хазяї: оселедцеві, тріскові, ставридові, камбалові

Локалізація: задній відділ порожнини тіла, де личинки інкапсулюються на брижі, печінці, пілоричних придатках, м'язах, гонадах. У оселедцевих, личинки, як правило зустрічаються у м'язах.

Географічне поширення: басейн Атлантичного океану.

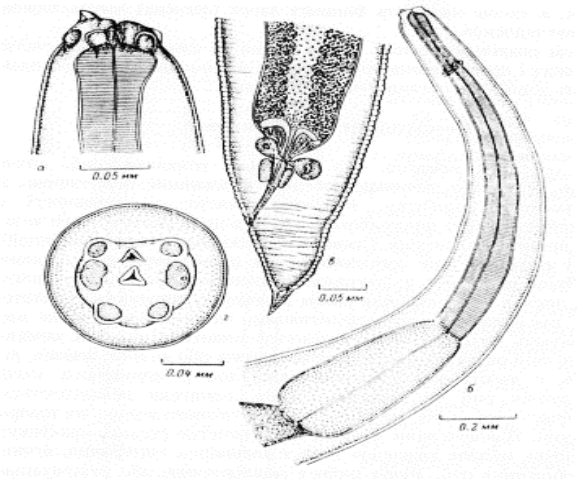


Рис. 54. *Anisakis sp. larva* III стадії: а – головний кінець тіла, латерально; б – передній кінець тіла, латерально; в – хвостовий кінець тіла, латерально; г – головний кінець тіла, апікально (за Ломакін, 1960)

Рис. 55. *Anisakis sp. larva* на печінці тріски

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження:

а) пряме дослідження цист розташованих у органах і тканинах;

б) дослідження після попередньої обробки, а також за допомогою збільшуваного приладу.

Макроскопічні ознаки: личинки крупні, до 1,5-2,0 см довжиною, білого або ледь червонуватого кольору; згорнуті в спіраль або у вигляді коми; знаходяться в інкапсульованому стані.

Мікроскопічні ознаки: кутикула поперечно покреслена по всій довжині тіла; довжина тіла личинки 10,0-17,0 максимальна ширина 0,20-0,50 мм; головний кінець шириною 0,12-0,19 мм, має сполучнотканинний чохлик із зубовидними відростками довжиною 0,011 мм; губи не виражені, рот щілиноподібний; довжина стравоходу 0,95-1,50, ширина 0,05-0,07 мм; шлуночок білий 0,41-0,42+0,10-0,12 мм; нервове кільце віддалене від переднього кінця тіла на 0,22 мм; анус в 0,24 мм від заднього кінця тіла; хвіст короткий, різко звужений і закінчується шиповидним виростом довжиною 0,002 мм.

Личинкові форми – паразити водних ссавців, рідше птахів. Одноманітність морфології личинок III стадії *Anisakis* обумовлює значні труднощі їх видової диференціації, тому умовно відносять таких личинок до збірної групи *Anisakis sp*, до з'ясування їх точної видової належності. Личинки небезпечні для людини. У літературі відомі летальні випадки у людей при захворюванні анізакідозом.

Рід: *Porrocaecum*

Porrocaecum decipiens (рис. 56)

Хвороба: Пороцекоз

Хазяї: тріскові, окуневі, камбалові, корюшкові, нототенієві та ін. види морських риб.

Локалізація: личинки нематод локалізуються у мускулатурі риб і найбільш чисельні в її товстих м'язових частинах, будучи менш чисельними у тонкій прихвостовій частині.

Географічне поширення: Північно-Східна, Північно-Західна, Південно-Західна Атлантика.

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) пряме дослідження мускулатури риб.

Макроскопічні ознаки: личинки нематод темного кольору; розмір 1,6-6 см; згорнуті в широке кільце.

Нематоди даного виду завершують свій розвиток у морських ссавців (тюленів). Риба втрачає товарний вигляд.

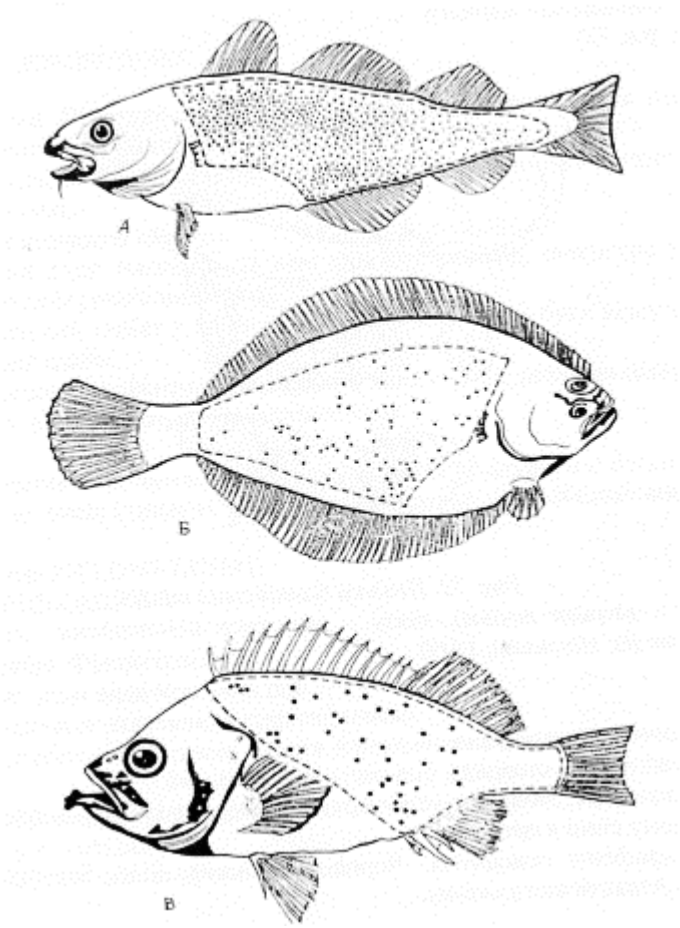


Рис. 56. Розташування личинок нематоди *Porrocaecum decipiens* у філе: А – тріски, Б – камбали, В – морського окуня (за Гаєвська, Ковальова, 1975)

Рід: *Contracaecum*

Contracaecum aduncum (рис. 57)

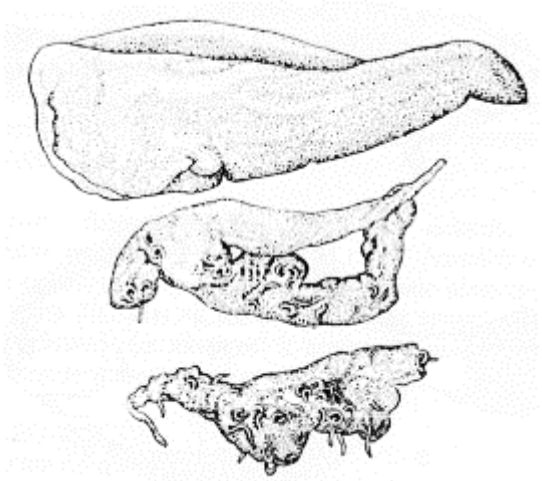


Рис. 57. Печінка балтійської тріски. Вгорі – здорова печінка; внизу – заражена нематодами *Contracaecum aduncum* (за Шульман, 1949)

Хвороба: Контрацекоз

Хазяї: більшість морських риб (ставрида, тріска)

Локалізація: личинки зустрічаються у риб як в інкапсульованому, так і у вільному стані в органах.

Географічне поширення: Чорне, Балтійське, Біле, Баренцове моря, басейн Атлантичного океану.

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) пряме дослідження органів і тканин

Макроскопічні ознаки: черви досягають в довжину 1-2 см; у вільному стані личинки часто мають S-подібну форму і локалізуються у кишечнику, пілоричних придатках, порожнині тіла, печінці риб, брижі; печінка тріски, уражена личинками, набуває сіро-червоного, коричневого кольору з ознаками крововиливів. Може спостерігатися її повне руйнування.

Мікроскопічні ознаки: розмір личинок коливається в залежності від віку і виду хазяїна; на передньому кінці чітко виражений «личинковий зуб», розташований сублатерально; губи розвинуті слабо; стома дуже маленька, за нею знаходиться стравохід, шлуночок та його відростки диференційовані чітко; кишковий виріст у личинок раннього віку може бути відсутнім або розвинутий слабо; у личинок, дефінітивними хазяями яких є риба, довжина шлункового відростку часто перевищує довжину стравоходу.

Для людини нематоди не є небезпечними.

Родина: *Philometridae*

Рід: *Philometra*

Хвороба: Філометроідоз

Хазяї: різні види морських риб

Локалізація: порожнина тіла, очі, плавці

Географічне поширення: басейн Атлантичного океану

Макроскопічне дослідження:

1. Методи дослідження

а) пряме дослідження органів і тканин

Макроскопічні ознаки: живі нематоди, як правило червоного або червоно-коричневого кольору; розміри можуть досягати до 20 см; личинки нематод покидають тіло самки через розрив у кутикулі; дорослі філометри не покидають свого місця локалізації в хазяїні.

Нематоди прісноводних риб

Родина: *Philometridae*

Рід: *Philometra*

Philometroides lusiana (рис. 58)

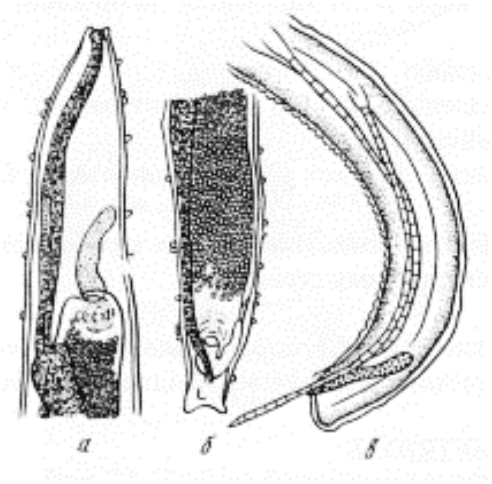


Рис. 58. Збудник філометроїдозу – *Philometroides lusiana:* а – передній кінець тіла самки; б – задній кінець тіла самки; в – задній кінець тіла самця (за Васильков, 1983)

Хвороба: Філометроідоз коропів

Хазяї: короп, сазан та їх гібриди

Локалізація: статевозрілі гельмінти локалізуються в м'язовій тканині, лускових кишеньках і рідше в порожнині тіла. Личинкові стадії розвиваються у внутрішніх органах: печінці, нирках, плавальному міхурі, гонадах.

Географічне поширення: філометроідоз зустрічається майже у всіх зонах вирощування коропа і нерідко в природних водоймах

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) досліджуються самки гельмінта локалізовані в лусочкових кишенях;

б) компресорно проглядають під мікроскопом шматочки печінки, нирок, плавальний міхур на виявлення личинок або самців філометроідесів.

Макроскопічні ознаки: самка нематоди рожевого або вишнево-червоного кольору, 80-120 мм довжини і 0,8-1 мм ширини; самець значно менше самки, довжина тіла від 2,9 до 4,5 мм, а ширина 0,035-0,046 мм, сірувато-білого кольору, поверхня тіла гладка.

Мікроскопічні ознаки: у самців передній кінець закруглений, задній дещо увігнутий на вентральну сторону і має 2 губовидні лопаті. Дві одинакові спікули довжиною 0,19-0,23 мм, висовуються субтермінально; на передньому кінці є ротовий отвір, а на задньому кінці копулятивний апарат, який складається із двох тонких рівних спікул довжиною 0,17-0,25 мм і рулька довжиною 0,048-0,060 мм; у самки на головному кінці є 4 плоскі папіли, між якими розташовується тригранний ротовий отвір, який веде в стравохід. У самки довжиною 90 мм стравохід сягає 2 мм довжини. Хвостовий кінець має 4 виступи, із яких 2 розвинуті сильно. Кутикула вкрита багаточисельними сосочками. Яєчники короткі, розташовані з обох кінців тіла, в матці багато яєць діаметром 0,03-0,04 мм. Навесні у них розвиваються личинки довжиною 0,40-0,47 мм.

Діагноз на філометроідоз ставлять на підставі клінічних ознак, виявлених під лускою філометр. Для цього за допомогою скальпеля з риби

повністю видаляють луску. У літній час в період зараження і міграції личинок філометроідес у внутрішніх органах діагноз встановлюють методом гельмінтологічного дослідження риб. Для цього під малим збільшенням мікроскопу (7х8) досліджують скребок слизу із кишечника і серозних покривів тканини печінки, плавального міхура та інших органів, котрі роздавлюють між предметними склами і проглядають під мікроскопом, при цьому відмічаються змієподібні рухи живих личинок.

Для виявлення мігруючих стадій нематоди краще застосовувати метод проекційної філометроїдоскопії за допомогою проекційної камери і компресорія. Для дослідження плавального міхура роблять ножицями розріз зовнішньої непрозорої оболонки передньої камери і відділяють її пінцетом від внутрішньої прозорої. Обидві оболонки розправляють на нижньому склі компресорія, далі розрізають і розправляють стінку задньої камери. При дослідженні кишечника роблять тільки повздовжній розріз. Коли нижнє скло компресорія заповнене, наносять декілька крапель води, накладають верхнє скло і роздавлюють тканину.

Компресорій поміщають під об'єктив проекційної камери, розглядають з лівого краю, поволі рухаючи поперек так, щоб вся площа в кожному полі зору була ретельно розглянута. Різкість зображення досягається шляхом зміни відстані між об'єктивом і компресорієм.

Хвороба: Філометроідоз карасів

Хазяї: карасі сріблясті і золоті

Локалізація: статевозрілі гельмінти локалізуються у риб в променях хвостового плавця і рідше в променях спинного. Личинкові стадії гельмінта локалізуються у внутрішніх органах риб: в печінці, нирках, плавальному міхурі.

Географічне поширення: річки басейну Чорного, Балтійського, Каспійського, Білого морів.

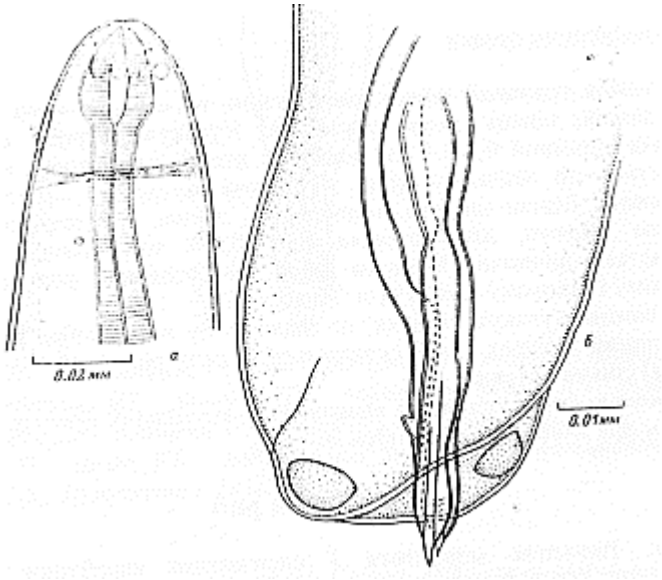


Рис. 59. Збудник філометроїдозу карасів – *Philometroides sanguinea*:
а – головний кінець тіла самок; б – хвостовий кінець тіла самок
(за Ломакіним, 1960)

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) візуальне дослідження самців нематоди, які локалізуються в порожнині тіла і в стінці плавального міхура, самок – в шкірі між променями плавців.

Макроскопічні ознаки: самка гельмінта рожево-червоного кольору, довжина тіла 35-55 мм, ширина 0,85-1,0 мм; самець білуватого кольору, довжина тіла 3,1-3,9 мм, ширина 0,055-0,060 мм.

Мікроскопічні ознаки: у самок головний кінець закруглений, на його вершині є ротовий отвір, задній кінець дещо звужений; кутикула вкрита сосочками; стравохід короткий 0,3-0,4 мм довжини, далі йде кишечник, який сліпо закінчується на задньому кінці; матка широка, мішковидна, займає всю порожнину тіла, заповнена яйцями, діаметр яких 0,017-0,024 мм; навесні в яйцях розвиваються личинки; яєчники парні, розташовані на передньому і задньому кінцях тіла; живородні; у самців кутикула гладка, на хвостовому кінці добре розвинутий копулятивний апарат, який складається із двох рівних (0,073-0,082 мм довжини) спікул і рулька.

Запитання для самоконтролю:

1. Значення іхтіопатологічних досліджень нематодозів морських і прісноводних риб.
2. Етіологія та патогенез анізакідозу, контрацекозу, філометроїдозу.
3. Діагностика та дефференціація анізакідозу, контрацекозу, філометроїдозу.
4. Заходи профілактики та лікування анізакідозу, контрацекозу, філометроїдозу.
5. Обладнання для мікроскопічного дослідження препаратів.

Практичне заняття № 37

Тема: Бдельози риб. Ракоподібні паразити риб

Мета заняття: збір, фіксація, вивчення морфології, виготовлення препаратів і визначення паразитів

Матеріали та обладнання: ручна лупа, мікроскоп і об’єкт-мікрометри, чашка Петрі з очищеним шаром парафіну на дні, банки із темного скла з притертими корками на 50 мл і 100 мл, марля, вата, фільтрувальний папір, дистильована вода, квасцевий кармін, етиловий 80°, 90°, 96°-ний і солянокислий спирти, диметилфталат, канадський бальзам, гліцерин, аркуші білого паперу, вага, жива риба, визначник паразитів прісноводних і морських риб.

Завдання:

1. Описати, замальовати і опрацювати збудників бдельозів риб;
2. Описати, замалювати і опрацювати ракоподібних паразитів риб.

Організація і проведення роботи. П’явки (*Hirudinea*) – належать до класу кільчастих червів (*Annelides*). Це широко поширені тварини, деякі з них паразитують у риб багатьох прісних і солоних водойм. Тіло п’явок коротке, плоске і подовжене, рідше циліндричне (рис. 60). На кінці тіла розташовані передня і задня присоски – органи прикріплення п’явок. У багатьох видів на передній присосці є очі, на задній очеподібні плями (рис. 61).

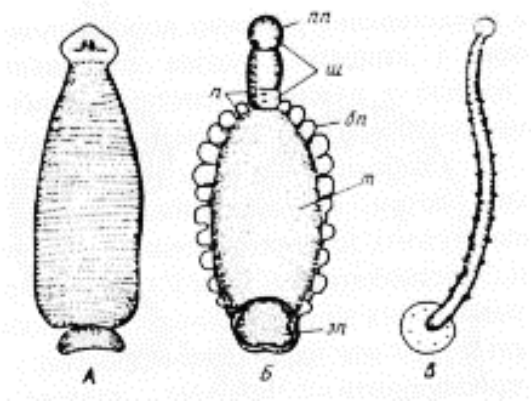


Рис. 60. Форми тіла п’явок: А – плоске, коротке тіло не поділене на “шию” і “тулуб”; Б – те ж саме, але різко поділене на “шию” і “тулуб” з крупними бічними міхурами; В – довге циліндричне тіло, не поділене на “шию” і “тулуб” з маленькими боковими міхурами. пп – передня присоска, зп – задня присоска, ш – “шия”, п – поясок, т – “тулуб”, бм – бокові міхури (за Муселіус, 1983)

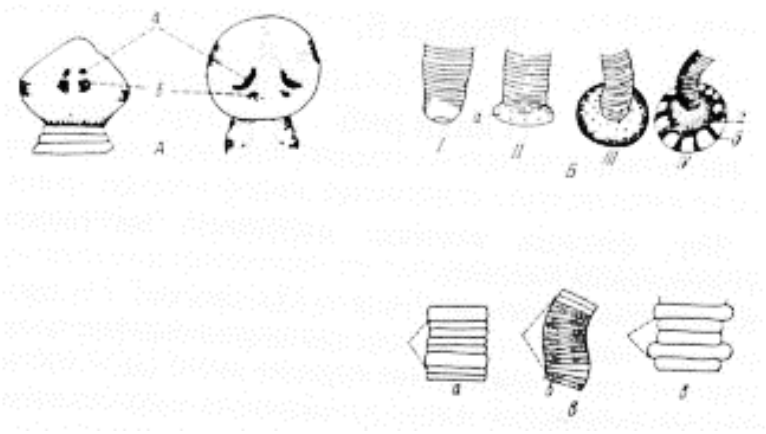


Рис. 61. Будова окремих частин тіла п’явок. А – передня присоска і очі п’явок: а – перша, б – друга пара очей; Б – задня присоска (зп) п’явок: I – зп, яка утворює пряме продовження тіла, II – маленька зп, III – велика зп, яка прикріплена до тіла екцентрично, а – очноподібні плями, б – радіальні пігментні смуги; В – визначення кількості кілець в соміті, а – за боковими міхурами, б – за забарвленням, в – за чергуванням (за Муселіус, 1983)

Тіло п’явок складається із сомітів, число яких, як і число кілець всередині “повних” сомітів (всередині тіла) є систематичною ознакою виду.

Травна система представлена ротовою порожниною, глоткою, стравоходом, шлунком і кишкою. Будова переднього відділу травного апарату є однією з важливих систематичних ознак, за якими типічних п’явок

поділяють на два ряди: хоботкові п'явки і безхоботні п'явки. У хоботних п'явок ротова порожнина розростається навколо глотки, яка набуває вигляду рухливої мускульної трубки, яка служить для проколювання покривів жертви і висмоктування крові. У безхоботних п'явок у глотці утворюється 3 валики, які мають у кровосисних видів зазублені пластинки-щелепи.

Шлунок у більшості п'явок має парні сліпі відростки.

П'явки – гермафродити. Чоловіча статева система представлена сім'яними мішками (4-15 пар і більше), які розташовані у середній і задній частинах тіла. Виходячи з них сім'явивідні канали впадають у сім'япроводи, які утворюють сім'яні резервуари, які переходять у мускулисті сім'явпорскуючі канали. Кінцеві відділи останніх відкриваються у непарний атріум.

Жіноча статева система представлена двома яйцевими мішками і яйцепроводами, які зливаючись, утворюють коротку піхву.

Розвиток п'явок відбувається прямим шляхом: після запліднення в жіночій статевій системі утворюються яйця, які п'явки відкладають у кокони і прикріплюють їх до різних підводних предметів, рослин, або прибережного грунту. Із яєць виходять вже сформовані п'явки.

Більшість із них кровосисні форми. Більшість п'явок є тимчасовими паразитами, пов'язані з рибою тільки під час живлення (*Piscicola geometra*) і лише деякі з них проводять основний час свого життя на хазяїні (*Piscicola respirans, Limnotrachelobdella sinensis*). Епізоотичне значення для прісноводних риб мають лише декілька видів: *Acanthobdella peledina, Piscola geometra* та ін. Викликане п'явками захворювання риб називають бдельозом.

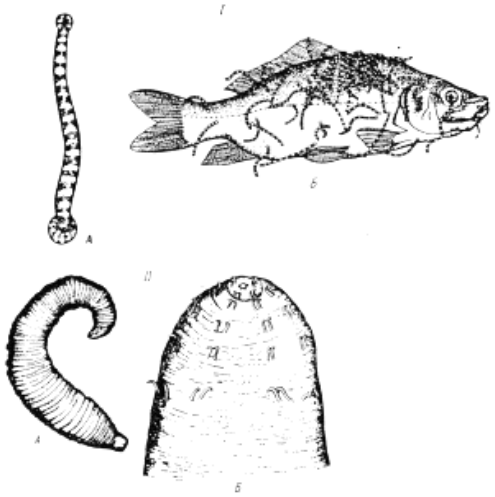


Рис. 62. П'явки риб. 1 – *Piscicola geometra* (А) і заражений ними короп (Б); *Acanthobdella peledina*: А – загальний вигляд, Б – передній кінець тіла (за Муселіус, 1983)

Порядок проведення роботи наступний:

1. Збір, фіксація і зберігання матеріалу. Живу рибу знерухомлюють і кладуть в кювету. Ретельно (із використанням ручної лупи) оглядають рибу, плавці, поверхню тіла, ротову порожнину, зябра і зяброві кришки. Виявлених п'явок пінцетом переносять у солонки з водою. Мітять їх тимчасовими

етикетками і відмічають у робочому зошиті природне забарвлення червів. Фіксують п'явок, використовуючи один із фіксаторів – 1-2%-ий формалін або 70°-ний спирт. Час кінцевої фіксації 1-2 год і більше. На зберігання червів переносять у 4%-ий формалін або новий розчин 70°-ного спирту і поміщають у темне місце, щоб матеріал не знебарвлювався на світлі.

2. Із дрібних п'явок готують тотальні препарати із фарбуванням і наступним заключенням в бальзам, як під час роботи з трематодами.

3. Визначення паразитів. П'явок вивчають на фіксованому (рідше живому) матеріалі. Зафіксованого черва переносять на предметне скло і накривають зверху іншим. Переносять паразита під мікроскоп і легко притискають, вивчають його зовнішню будову. Відмічають форму і розмір тіла, присосок, встановлюють загальне число сомітів і кількість кілець в одному повному соміті, наявність щетинок, вічок і т.д. отримані дані заносять у зошит. Для з'ясування деяких ознак наприклад, наявність і розташування вічок та інше корисно просвітлювати цілих п'явок або частинки їх у гліцерині протягом декількох годин. За допомогою визначника з'ясовують видову належність п'явки, проводячи з окуляр-мікрометром необхідні проміри. Замальовують окремі, найбільш характерні морфологічні ознаки виду. Роблять відповідну етикетку на препарат.

4. У деяких випадках проводять розтин червів, щоб з'ясувати особливості будови травної та інших систем. З цією метою поміщають черва у чашку Петрі із застиглим на дні воском (бажано темного кольору) переносять під мікроскоп і гострим скальпелем надрізають шкірні покриви, ізолюють потрібні частини черва, за допомогою препарувальних голок поступово розщеплюють тканини, обережно ізолюють різні органи для наступного їх замальовування і вивчення.

5. Проглядають п'явок риб із колекції. З'ясовують їх систематичне положення.

Ракоподібні паразити риб

Тип Членистоногі – *Arthropoda*

Тіло складається із сегментів, які неоднаково побудовані у різних частинах тіла і часто групуються всього у три відділи: голову, груди та черевце. Інколи сегменти частково або повністю зливаються. Кінцівки рухливо зчленовані з тілом і складаються із рухливо з'єднаних між собою члеників. Все тіло покрите хітинізованою кутикулою, яка утворює зовнішній скелет, дуже щільний на самих сегментах і тонкий еластичний на краях між сегментом і члениками кінцівок.

Ріст відбувається з періодичними линьками. Під кутикулою гіподермічний епітелій. Мускулатура поперечносмугаста, у вигляді окремих мускульних пучків. Порожнина тіла міксоцель. Травна система у вигляді кишки, котра складається з 3 відділів: переднього, середнього, який нерідко має травні залози і заднього. Нервова система – пара надглоткових гангліїв, навкологлоткові комісури і черевний нервовий ланцюжок. Дихальна система

різноманітна. Кровоносна система незамкнена, часто з пульсуючим органом у вигляді видозмінених целомодуктів, або метанефридіїв.

Розмноження статеве: розвиток проходить з метаморфозом, членистоногі, як правило, роздільностатеві, нерідко мають статевий диморфізм.

Організація і проведення роботи

Паразитуючі у риб ракоподібні (клас *Crustacea*) поділяються на два підкласи (нижчі і вищі) і відносяться до рядів веслоногих (*Copepoda*), зяброхвостих (*Branchiura*), рівноногих (*Isopoda*) (рис. 63)

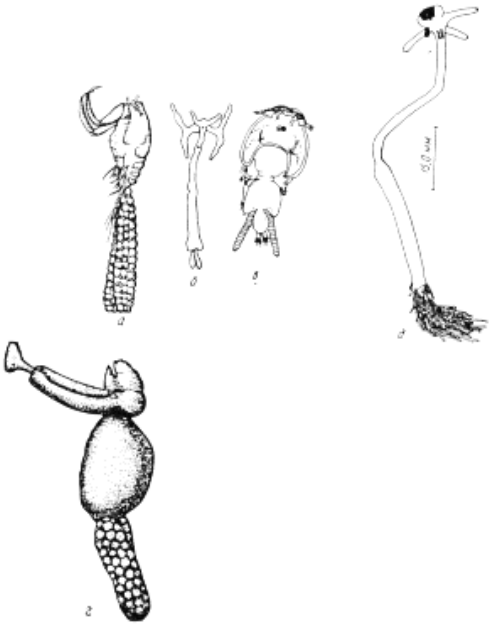


Рис. 63. Паразитичні рачки ряду *Copepoda*: а – *Ergasilus sieboldi*; б – *Lernea cyprinacea*; в – *Caligus lacustris*; г – *Salmonicola salmonea*; д – *Penella hawaitensis*

При вивченні рачків слід звертати увагу на форму і розміри тіла, характер сегментації, співвідношення розмірів тіла, будову кінцівок і прикріплювальних органів, яйцевих мішків.

У риб прісних вод найбільш поширені представники родів *Ergasilus*, *Sinergasilus*, *Lernaea*, *Caligus*, *Achteres*, *Tracheliastes*, які відносяться до ряду – *Copepoda*, а також роду *Argulus* із ряду зяброхвостих (*Branchiura*). У морських риб окрім названих родів копепод часто паразитують представники родів *Sphyrion*, *Penella*, *Lernaenicus* та ін., а також деякі з рівноногих рачків (рис. 64).

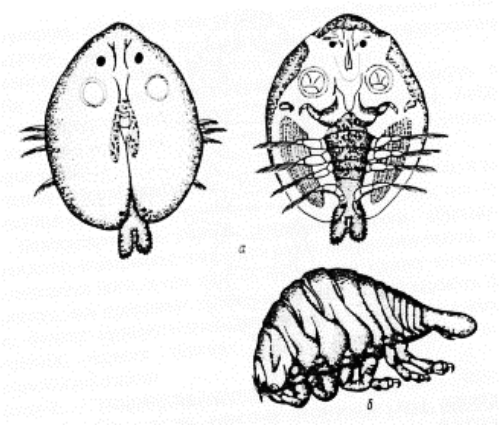


Рис. 64. Зяброхвості (*Branchiura*) і рівноногі (*Isopoda*):
а – *Argulus foliaceus*; б – *Livoneca amurensis* (за Муселіус, 1982)

Порядок проведення роботи:

1. Збір матеріалу. Живу рибу знерухомлюють, кладуть в кювету. Уважно оглядають поверхню тіла, а також зяброві кришки. Далі відрізають плавці, поміщають на скло зволоживши водою, розглядають під бінокуляром. На поверхні тіла прісноводних риб можна виявити рачків із родів *Lernea*, *Caligus*, *Tracheliastes*, *Argulus*, морських риб – рачків із родів *Paneela*, *Lepeophtherius*, *Shyrion* та ін. У ротовій порожнині і на зябрах лососевих нерідко знаходять рачків із роду *Salmonicola*, тріскових із роду *Caligus*. На очах та інших ділянках голови оселедців знаходять рачків із роду *Lernaenicus*.

Всіх рачків, виявлених на поверхні тіла, обережно знімають препарувальними голками, надрізаючи при необхідності тканини хазяїна в місці прикріплення паразита, з тим щоб виділити непошкодженим головний кінець паразита, який відіграє важливу роль при визначенні виду. Знятих паразитів вміщують спочатку в солонку (або годинникове скло) з чистою дистильованою водою і за допомогою пінцета і тонких препарувальних голок звільняють від залишків тканин і слизу.

Далі акуратно вирізають зяброві дуги, вміщують на скло для розтину, зволожують водою із піпетки. Спочатку оглядають їх неозброєним оком, а потім під лупою або бінокуляром, обережно розсуваючи зяброві пелюстки голками. Виявлених паразитів акуратно знімають препарувальними голками або пінцетом і переносять в чисту воду.

На зябрових пелюстках прісноводних риб можуть бути виявлені представники роду – *Ergasilus*, *Sinergasilus*, *Achteres*, *Salmonicola*, морських риб – представники родів *Lernaeocera*, *Caligus* та ін.

2. Вивчення живих паразитів. Виділеного рачка вміщують на предметне скло в краплю чистої води і розглядають під лупою або бінокуляром, а окремі деталі – під малим збільшенням мікроскопа, попередньо накривши рачка покривним склом, але не притискаючи його, щоб не пошкодити хрупку хітинізовану кутикулу, яка покриває тіло рачка. Уважно розглядають форму тіла, будову прикріплювального апарата,

наявність і кількість сегментів, парних яйцевих мішків. Замальовують основні систематичні ознаки.

3. Фіксація, визначення паразитів і виготовлення постійних препаратів. Не завжди вдається визначити вид паразита на живому матеріалі. Часто це зручно зробити на фіксованому. Рачків фіксують, вміщуючи у флакон з 70°-ним спиртом або 4%-ним формаліном, не притискаючи їх, а просто опускаючи туди. Частіше всього для визначення виду паразита його виймають із флакона з фіксатором, переносять на предметне скло у спирт з гліцерином, або краплю молочної кислоти або спирту (для просвітлення) і розглядають під мікроскопом. За допомогою визначника з'ясовують видову належність рачка. Після визначення його знову поміщають у спирт, де зберігають невизначений час. У флакон вкладають етикетку із зазначенням виду паразита, хазяїна, місця і часу виявлення.

Однак інколи виникає необхідність виготовити постійний препарат для більш ретельного вивчення дрібних деталей паразита та його личинок. Препарат із цілого паразита готують наступним чином: фіксованих у 4%-му розчині формаліну рачків відмивають у спиртах зростаючої концентрації, інколи просвітляють у спирті з диметилфталатом або спирті з гліцерином, переносять на предметне скло у заздалегідь нанесену на нього краплю гліцерин-желатину, або бальзаму і акуратно, не дуже натискаючи (щоб не пошкодити кутикулу) накривають покривним склом. Якщо рачок крупний і товстий (напр. аргулюс або лернея, калігус та інші), то по кутам покривного скла роблять маленькі ніжки із воску, котрі запобігають роздавлюванню паразита. При цьому кількість гліцерин-желатину необхідно збільшити, щоб між покривним і предметним склом не утворювалося бульбашок повітря.

При визначенні виду представників родини *Ergasilidae*, *Lernaeopodidae* і деяких інших рачків вміщують у краплю води на предметне скло і під мікроскопом препарувальними голками відокремлюють головні кінцівки: антени I і II, жвали (мандибули) і щелепи (максіли), грудні ніжки (максиоліпеди), котрі видозмінюються у щелепові, а інколи черевні (плавальні) ніжки, які часто бувають рудиментарними. Відпрепаровані кінцівки вміщують у краплю рідини Калецької або спирт х гліцерином і обережно накривають покривним склом, яке пізніше обводять замазкою. На готовому препараті вивчають будову кінцівок, співвідношення члеників, форму ротового апарату.

Визначення паразита проводять за допомогою визначника. На кінець предметного скельця наклеюють етикетку такого ж змісту, як і на флакон, у якому зберігаються фіксовані рачки.

Родина: *Ergasilidae*

Рід: *Ergasilus*

Ergasilus sieboldi

Хвороба: Ергазильоз

Хазяї: лососеві, щукові, коропові, сомові, окуневі та ін.

Локалізація: зябра

Географічне поширення: водойми європейського континенту

Макроскопічне дослідження:

Тіло циклоподібне, розширене в передній частині і звужене до заднього кінця.

Мікроскопічне дослідження:

1. Методи дослідження:

а) вивчення живих паразитів;

б) вивчення на постійних препаратах.

Мікроскопічні особливості: статевозріла самка має грушоподібне тіло довжиною від 1,0 до 1,5 мм з розширеним переднім і звуженим заднім кінцем; перший грудний сегмент злитий з головним; є 5 пар плавальних ніжок; сумка має 2 яйцевих мішка, у кожному мішку по 100-110 яєць; на внутрішньому краю останнього членика антени II 1-2 невеликих сосочковидних зубця; передостанній членик антени II доволі широкий, його довжина перевищує ширину в 2,5-3 рази; середній членик ендоподита II-I пар ніг несе по 2 щетинки.

Рід: *Sinergasilus*

Sinergasilus major (рис. 65)

Хвороба: Сінергазильоз

Хазяї: білий амур

Локалізація: зябра

Географічне поширення: р. Амур, паразит завезений у водойми Європи під час акліматизаційного транспортування.

Макроскопічні дослідження:

1. Методи дослідження

а) вивчення живих паразитів;

б) вивчення на постійних препаратах.

Мікроскопічні особливості: сегменти тіла злиті один з одним, але межі між ними добре помітні; хвостові відгалуження добре розвинуті; на задньому кінці тіла є парні яйцеві мішки, в кожному з яких від 350 до 400 яєць.

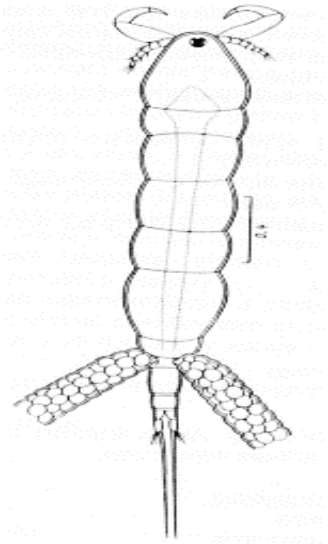


Рис. 65. *Sinergasilus major* – самка

Рід: ***Lernea***

Lernea cyprinacea

Хвороба: Лернеоз

Хазяї: карасі, короп, білий амур, товстолобики, буфало

Локалізація: шкіра

Географічне поширення: водойми європейського континенту.

Макроскопічні дослідження:

а) вивчення живих паразитів;

б) вивчення на постійних препаратах.

Мікроскопічні ознаки: спинні і черевні вирости тонкі, циліндричні, нерідко з додатковими відгалуженнями; спинні вирости Т-подібні; черевце з прегенітальним виступом, роздвоєним у старих самок, у молодих – однодольним; довжина циклопоїдного самця 0,76 мм, складається із 6-8 члеників; у самки із 4-6, антени II мають на вільному кінці кігті; на кінці тіла самки розташовані парні яйцеві мішки, у кожному від 300 до 700 яєць; на черевній стороні рачка є п'ять пар плавальних ніжок.

У коропа паразитує дещо інша форма, яка відрізняється морфологічно від форми паразитуючої на карасях, але називається також *L. cyprinacea*. У білого амура паразитує *L. ctenopharyngodonie*.

Родина: *Argulidae*

Рід: *Argulus*

Argulus foliaceus

Хвороба: Аргульоз

Хазяї: прісноводні риби

Локалізація: шкіра, зябра

Географічне поширення: водойми Європи, Сибіру, Середньої Азії та інших континентів.

Макроскопічні дослідження:

Рачки крупні, досягають довжини 7-8 мм. Тіло овальне, широке, сплющене, сірувато-зеленого кольору.

Мікроскопічне дослідження:

Методи дослідження:

а) вивчення живих паразитів;

б) вивчення на постійних препаратах.

Мікроскопічні ознаки: головогруди вкриті широким опуклим щитом задній кінець якого серцеподібно вирізаний; на кінці прикріплювальних органів розташовані вигнуті гачки; на черевній стороні є смоктальний хоботок і присосковидні органи; є два фасеточних ока; чотири пари двогільчатих плавальних ніжок, покритих довгими пір'ястими щетинками.

Самці і самки подібні за розмірами і будовою, можуть відокремлюватись від риби і плавати у воді.

Запитання для самоконтролю:

1. Значення іхтіопатологічних досліджень крустацеозів риб.

2. Етіологія та патогенез ергазильозу, лернеозу, аргульозу.
3. Діагностика та деференціація ергазильозу, лернеозу, аргульозу.
4. Заходи профілактики та лікування ергазильозу, лернеозу, аргульозу.
5. Обладнання для мікроскопічного дослідження препаратів.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна література

1. Вовк Н.І., Божик В.Й. Іхтіопатологія. Київ, 2014. 308 с.
2. Головина Н.А., Стрелков Ю.А., Воронин В.Н. и др. Ихтиопатология. Москва, 2003. 448 с.
3. Микулич Е.А. Болезни рыб. Горки, 2010. 92 с.
4. Скогорева А.М., Манжурина О.А., Ромашов Б.В. Диагностика заразных болезней рыб. Воронеж, 2016. 108 с.
5. Стибель В.В., Березовський А.В., Довгій Ю.Ю. та ін. Інвазійні хвороби риб. Житомир, 2016. 142 с.

Додаткова література

1. Буторина Т.Е. Определитель распространенных паразитов рыб Дальневосточных морей. Владивосток, 2006. 126 с.
2. Гаевская А.В. Паразиты и болезни морских и океанических рыб в природных и искусственных условиях. Севастополь, 2004. 237 с.
3. Гаевская А.В. Паразиты и болезни рыб Черного и Азовского морей. Севастополь, 2012. 380 с.
4. Грищенко Л.И., Акбаев М.Ш., Васильков Г.В. Болезни рыб и основы рыбоводства. Москва, 1999. 456 с.
5. Давыдов О.Н., Темниханов Ю.Д. Болезни пресноводных рыб. Киев, 2003. 544 с.
6. Давыдов О.Н., Темниханов Ю.Д., Куровская Л.Я. Патология крови рыб. Киев, 2005. 212 с.
7. Догель В.А. Курс общей паразитологии. Ленинград, 1947. 318 с.
8. Зажарська Н.М., Куцак Р.С., Бібен І.А. та ін. Ветеринарно-санітарна експертиза. Дніпро, 2017. 193 с.
9. Иваненко А.М. Ихтиопатология. Краснодар, 2016. 413 с.
10. Казарникова А.В., Шестаковская Е.В. Основные заболевания осетровых рыб в аквакультуре. Москва, 2005. 104 с.
11. Микитюк П.В., Джміль В.І., Букалова Н.В. та ін. Практикум з біології, патології та ветсанекспертизи прісноводної риби. Біла Церква, 2009. 160 с.
12. Мишанин Ю.Ф. Ихтиопатология и ветеринарно-санитарная экспертиза рыбы. Санкт-Петербург, 2012. 559 с.
13. Рахконен Р., Веннерстрем П., Ринтамяки П. и др. Здоровая рыба. Профилактика, диагностика и лечение болезней. Хельсинки, 2013. 177 с.
14. Секретарюк К.В., Данко М.М., Стибель В.В. Ветеринарна санітарія і гігієна в рибництві. Москва, 2002. 177 с.

ЗМІСТ

ВСТУП 3
ОЧІКУВАНІ КОМПЕТЕНТНОСТІ 4
ВІДПОВІДНО ДО СТАНДАРТУ ВИЩОЇ ОСВІТИ
ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ НАВЧАННЯ 5
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 1 6
ОСНОВИ ЗАГАЛЬНОЇ ІХТІОПАТОЛОГІЇ
Практичне заняття № 1 6
Устаткування лабораторії іхтіопатологічних досліджень
Практичне заняття № 2 8
Відбір та доставка патологічного матеріалу для лабораторного дослідження
Практичне заняття № 3 11
Патолого-анатомічний розтин риб
Практичне заняття № 4 13
Формування паразитофауни риб
Практичне заняття № 5 16
Вплив паразитів на організм риби. Видова специфічність паразитів
Практичне заняття № 6 18
Техніка виконання повного паразитологічного розтину риб
Практичне заняття № 7 27
Оформлення протоколу повного паразитологічного розтину риб
Практичне заняття № 8 29
Імунологічна реактивність у риб за впливу різних чинників
Практичне заняття № 9 31
Форми перебігу інфекційних хвороб риб
Практичне заняття № 10 32
Умови виникнення епізоотії та форми прояву епізоотичного процесу
Практичне заняття № 11 33
Вплив стресу на організм риб
Практичне заняття № 12 37
Методи прижиттєвої діагностики хвороб риб
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 2 40
СПЕЦІАЛЬНА ІХТІОПАТОЛОГІЯ (ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ РИБ)
Практичне заняття № 13 40
Вірусологічні дослідження
Практичне заняття № 14 43
Вірусні хвороби риб
Практичне заняття № 15 44
Бактеріологічні дослідження
Практичне заняття № 16 46
Бактеріальні хвороби риб
Практичне заняття № 17 48

Мікологічні дослідження
Практичне заняття № 18 49
Мікози риб
Практичне заняття № 19 49
Лікувально-профілактична обробка ікри під час інкубації
Практичне заняття № 20 50
Лікувально-профілактична обробка риби. Визначення ефективності проведених лікувально-профілактичних заходів
Практичне заняття № 21 54
Експериментальний метод підтвердження етіологічної ролі збудника в біологічній пробі
Практичне заняття № 22 55
Діагностичне значення гематологічних показників
Практичне заняття № 23 56
Методи підвищення життєстійкості риб під час інфекційних захворювань
Практичне заняття № 24 57
Вакцинація риб
ЗМІСТОВИЙ МОДУЛЬ 3 59
СПЕЦІАЛЬНА ІХТІОПАТОЛОГІЯ (ІНВАЗІЙНІ І НЕЗАРАЗНІ ХВОРОБИ РИБ)
Практичне заняття № 25 59
Найбільш поширені інвазійні хвороби риб
Практичне заняття № 26 60
Методи вивчення збудників протозойних хвороб риб
Практичне заняття № 27 66
Міксоспоридіози риб
Практичне заняття № 28 71
Мікроспоридіози риб
Практичне заняття № 29 76
Паразитичні війчасті інфузорії риб
Практичне заняття № 30 83
Вивчення війчастих інфузорій Класу *Ciliata*
Практичне заняття № 31 88
Кокцидії риб (хвороби риб, що викликаються споровиками)
Практичне заняття № 32 93
Методи визначення збудників гельмінтозів риб
Практичне заняття № 33 109
Цестодози риб
Практичне заняття № 34 114
Характеристика Родини *Diphylobothridae*
Практичне заняття № 35 119
Цестодози морських риб
Практичне заняття № 36 123
Нематоди морських і прісноводних риб

Практичне заняття № 37 131
Бдельози риб. Ракоподібні паразити риб
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА 141

Навчально-методичне видання

ІХТІОПАТОЛОГІЯ

Методичні вказівки
до виконання практичних робіт для студентів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 207 “Водні біоресурси та аквакультура”

Гриневич Наталія Євгеніївна
Слюсаренко Алла Олександрівна
Хом’як Олександр Андрійович
Присяжнюк Наталія Михайлівна
Михальський Олег Ральфович
Трофимчук Алла Михайлівна
Жарчинська Валерія Сергіївна
Павуско Зоя Ананівна